N° D'ORDRE :
239
SÉRIE E.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

JEAN THIEBOLD

1re **THÈSE.** — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ORGANOGENÈSE UROGÉNITALE ET DE SON DÉTERMINISME CHEZ UN POISSON ÉLASMOBRANCHE : LA PETITE ROUSSETTE « SCYLIORHINUS CANICULUS » (L.).

2e **THÈSE.** — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 25 mars 1963 devant la Commission d'examen.

MM. A. RAYNAUD, Chef de Laboratoire à l'Institut Pasteur.

J.-H. VIVIEN.... *Président.*
P. JOLY..... } *Examinateurs.*
F. STÉPHAN..... }

Professeurs à la Faculté des Sciences de l'Université de Strasbourg.

PARIS

Éditions du Bulletin Biologique de la France et de la Belgique
105, Boulevard Raspail

1964

N° d'ordre :
239
Série E.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

JEAN THIEBOLD

1re **THÈSE.** — Contribution a l'étude de l'organogenèse urogénitale et de son déterminisme chez un poisson Élasmobranche : la petite roussette « Scyliorhinus canicula » (L.).

2e **THÈSE.** — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 25 mars 1963 devant la Commission d'examen.

MM. A. RAYNAUD, Chef de Laboratoire à l'Institut Pasteur.

J.-H. VIVIEN.... *Président.*
P. JOLY..... } *Examinateurs.*
F. STÉPHAN..... }

Professeurs à la Faculté des Sciences de l'Université de Strasbourg.

PARIS

Éditions du Bulletin Biologique de la France et de la Belgique
105, Boulevard Raspail

1964

FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

Doyen ..... M. le Professeur G. MILLOT.

Doyens honoraires. MM. A. DANJON, A. KIRRMANN, P. LACROUTE, H.-J. MARESQUELLE, J.-H. VIVIEN.

Professeurs honoraires ..... MM. Ed. BAUER, P. DE BEAUCHAMP, R. BONNET, L. BOUNOURE, H. CARTAN, G. CERF, Cl. CHABAUTY, A. CHRÉTIEN, A. DANJON, J. DENY, Ch. EHRESMANN, M. FRÉCHET, H. GAULT, L. HACKSPILL, A. HÉE, R. HOCART, A. KIRRMANN, F. LEMÉE, P. L'HÉRITIER, A. LICHNEROWICZ, L. NÉEL, H. OLIVIER, G. RIBAUD, Ch. SADRON, E. TERROINE, R. THIRY, H. VILLAT, Ét. WOLFF.

Professeurs .....

MM.		
H. WEISS	T	Physicochimie des hydrocarbures.
G. HUGEL	T	Chimie du pétrole.
H.-J. MARESQUELLE.	T	Biologie végétale.
A. ROUSSEL	T	Calcul différentiel et intégral et Théorie des fonctions.
H. FORESTIER	T	Chimie générale.
J. ROTHE	T	Physique du Globe.
P. LACROUTE	T	Astronomie.
J.-H. VIVIEN	T	Zoologie et Embryologie expérimentale.
L. BOISSELET	T	Chimie analytique du pétrole.
A. MAILLARD	TTP	Chimie.
S. GORODETZKY ..	T	Physique générale et Physique nucléaire.
L. SACKMANN.....	TTP	Mécanique des fluides.
J. BYE.....	T	Chimie minérale et Chimie physique.
R. LOMBARD	T	Chimie organique.
Mlle M. PEREY	T	Chimie nucléaire.
Ph. PLUVINAGE. ...	T	Physique expérimentale.
S. GOLDSZTAUB...	T	Minéralogie et Pétrographie.
P. JOLY	T	Biologie générale.
H. BENOIT	T	Physique générale.
J.-L. KOSZUL	T	Topologie.
P. CÜER.....	T	Physique générale et Physique corpusculaire.
G. MILLOT	T	Géologie et Paléontologie.
R. LECOLAZET	TTP	Physique du Globe.
H. SAUCIER	TTP	Minéralogie.
R. ROHMER	TTP	Chimie minérale.
Mlle S. GILLET	TTP	Paléontologie.
Mlle A. GAGNIEU ...	TTP	Botanique.
R. THOM	T	Analyse supérieure.
S. NIKITINE	T	Physique générale.
F. STUTINSKY	T	Physiologie générale.
B. WURTZ.....	PSC	Chimie biologique.
J. BRENET.....	TTP	Chimie physique.
G. OURISSON.....	TTP	Chimie.
Fr. STÉPHAN.....	PSC	Zoologie.
Cl. LEVI	TTP	Biologie générale.
R. CERF	TTP	Physique.
M. BERGER.....	TTP	Mathématiques.
J. FRENKEL.....	TTP	Mathématiques.
P. TAGLANG	T	Physique.
J.-P. LONCHAMP.....	PSC	Physique.
J. BOSCHER.....	PSC	Mécanique des Fluides.
A. DELUZARCHE	TTP	Chimie.
J.-B. DONNET.....	TTP	Chimie physique.

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN

MM.

Professeurs (suite)	A. ARMBRUSTER	PSC	Physique.
	A. ROCHE.....	PSC	Physique du Globe.
	L. HIRTH.....	T	Microbiologie.
	J. YOCCOZ	T	Physique théorique.
	A. SIGOT	PSC	Zoologie.
	J. COGNE.....	PSC	Géologie.
	A. FUCHS.....	T	Mécanique rationnelle.
	A. GALLMANN.....	PSC	Physique.
	P. MIALHE	TTP	Physiologie animale.
	J.-P. EBEL.....	T	Chimie biologique.

Maîtres de Conférences.....	J. PARROD.....	Chimie.
	R. WEY.....	Chimie.
	J. WUCHER.....	Physique.
	Mme D. MAGNAC.....	Physique.
	Mme M. BRINI.....	Chimie.
	M. DAUNE.....	Physique.
	J.-P. ADLOFF	Chimie nucléaire.
	J. GREMILLARD.....	Mathématiques.
	G. PERNY.....	Chimie.
	J. LEVISALLES	Chimie.
	D. BERNARD.....	Mathématiques.
	R. BARO.....	Physique.
	G. LAPRAZ.....	Botanique.
	H. DANAN.....	Physique.
	M. ZISMAN.....	Méthodes mathématiques de la physique.
	E. DANIEL.....	Physique.
	F. NORGUET.....	Mathématiques.
	P. CHEVALLIER.....	Physique.
	J. LERAY.....	Physique.
	H. DURANTON.....	Botanique.
	R. WEISS.....	Chimie.
	P. CARTIER.....	Mathématiques.
	J.-P. SCHWING.....	Chimie
	G. MONSENEGO	Physique.
	P. GABRIEL.....	Mathématiques.

Secrétaire ..... G. SAINT-PÉ.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550001_0054

A MA FEMME

A MES PARENTS

A MES BEAUX-PARENTS

A MON MAITRE

JEAN-H. VIVIEN

Doyen honoraire de la Faculté des Sciences de Strasbourg,
Professeur à la Faculté des Sciences de Strasbourg
(Chaire de Zoologie et Embryologie expérimentale)

Jean THIEBOLD

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ORGANOGENÈSE URO-GÉNITALE ET DE SON DÉTERMINISME CHEZ UN POISSON ÉLASMOBRANCHE : LA PETITE ROUSSETTE *SCYLIORHINUS CANICULUS* (L.)

SOMMAIRE

Pages

INTRODUCTION 255

PREMIÈRE PARTIE. — L'ORGANOGENÈSE URO-GÉNITALE CHEZ LA PETITE ROUSSETTE

I. — MÉTHODES D'INVESTIGATION 256

II. — LA PHASE D'INDIFFÉRENCE SEXUELLE 257

A. — Première phase de l'organogenèse gonadique 257
B. — Premières phases de l'organogenèse de l'appareil excréteur. . 261

1. Mise en place du pronéphros 262
2. Origine et premières étapes du développement du mésonéphros 265

C. — Formation du rein urinipare 274

III. — LES PROCESSUS DE LA DIFFÉRENCIATION SEXUELLE 274

A. — Différenciation sexuelle des gonades 275

1. Différenciation gonadique dans le sens femelle. 276
2. Différenciation gonadique dans le sens mâle 279

B. — Différenciation sexuelle du rein antérieur. 281

1. Évolution femelle 282
2. Évolution mâle 284

C. — Différenciation sexuelle des voies génitales 285

1. Évolution femelle 288
2. Évolution mâle 290

D. — Développement des organes copulateurs 293

IV. — TABLEAU RÉCAPITULATIF 293

V. — CONCLUSIONS 294

Pages

1. Différenciation des segments antérieurs du rein 294
2. Différenciation gonadique 296
3. Connexions uro-génitales 296
4. Canaux de Müller 297

DEUXIÈME PARTIE. — ACTION DES HORMONES SEXUELLES DE SYNTHÈSE SUR L'ORGANOGENÈSE URO-GÉNITALE

I. — INTRODUCTION. HISTORIQUE 298

II. — MÉTHODE D'INJECTION 301

III. — RELATION DES RÉSULTATS 302

Série I. — Hormone femelle injectée au stade 7-10 millimètres . . 302

Dose 0,05 mg. 304
— Étude des embryons femelles 304
— Étude des embryons mâles 309
Dose 0,01 mg 310

Série II. — Hormone femelle injectée au stade 20-23 millimètres . 311
Série III. — Hormone femelle injectée au stade 32-35 millimètres . 311
Série IV. — Hormone mâle injectée au stade 7-10 millimètres . . 312

Dose 1 milligramme 313
— Étude des embryons femelles 313
— Étude des embryons mâles 315
Dose 0,1 mg. 320

Série V. — Hormone mâle injectée au stade 32-35 millimètres . . 320

IV. — TABLEAUX RÉCAPITULATIFS 321

V. — INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS. CONCLUSIONS 323

1. Segments antérieurs du rein et organes copulateurs . . . 323
2. Gonades 324
3. Mésonéphros 325
4. Canaux de Müller. 326
5. Canaux de Wolff 327

TROISIÈME PARTIE. — LES RÉSULTATS DES GREFFES DE GONADES EMBRYONNAIRES

I. — INTRODUCTION 329

II. — DESCRIPTION DE LA TECHNIQUE 330

III. — DÉVELOPPEMENT DE GONADES INDIFFÉRENCIÉES, GREFFÉES ISOLÉMENT. . 332

1. Implantation des greffons 333
2. Différenciation histologique des greffons 335

IV. — DÉVELOPPEMENT DE GONADES GREFFÉES PAR COUPLES 336

1. Combinaisons hétérosexuelles 337
2. Associations de gonades de même sexe 337

V. — CONCLUSIONS. 339

RÉSUMÉ 341

BIBLIOGRAPHIE 343

LISTE ALPHABÉTIQUE DES ABRÉVIATIONS DES FIGURES 347

INTRODUCTION

Parmi toutes les recherches d'embryologie descriptive touchant au problème de l'organogenèse uro-génitale chez les Vertébrés, celles qui se rapportent aux Élasmobranches ont été certainement les plus nombreuses et les plus complètes. La vogue qu'a connue ce groupe de Vertébrés auprès des embryologistes est due à la place qui lui fut assignée au bas de l'échelle systématique de l'embranchement. Les travaux les plus importants remontent à la fin du siècle dernier et aux premières années du XX^e^ siècle. Des noms d'embryologistes prestigieux tels que Semper, Balfour, Ruckert, Rabl y sont étroitement liés.

Vers 1920 l'aspect causal du problème de la différenciation sexuelle est abordé. L'interprétation donnée par Lillie (1916-1917) du Free-Martinisme des Bovidés, l'essai d'analyse génétique du déterminisme du sexe, ont marqué le début d'une impressionnante série de travaux intéressant ce chapitre de l'embryologie causale. Batraciens, Oiseaux et Mammifères ont été l'objet de recherches les plus nombreuses et les plus précises. Les résultats acquis chez les Poissons et les Reptiles sont beaucoup plus fragmentaires. Enfin aucun travail expérimental intéressant le problème de la différenciation sexuelle des Sélaciens n'était connu au moment où, sur la proposition de M. le Professeur J.-H. Vivien, je décidais d'en aborder l'étude en choisissant comme matériel une espèce de Galéiforme ovipare : la petite Roussette, *Scyliorhinus caniculus* (L.).

Il pouvait à première vue paraître inutile de reprendre l'étude du développement normal de l'appareil uro-génital. Une revue complète des travaux portant sur cette question ne tardait cependant pas à me révéler de nombreuses contradictions dans l'interprétation des faits en même temps que des imprécisions sur des points qui, dans le cadre de recherches expérimentales étaient de première importance. D'autre part, les travaux les plus complets portaient le plus souvent sur des espèces différentes de celle que j'avais choisie.

C'est dans ces circonstances que j'ai été amené à reprendre entièrement l'étude de l'organogenèse uro-génitale normale chez la Roussette. Cette étude constitue la première partie du mémoire. La seconde partie montrera essentiellement dans quelles limites les processus de cette organogenèse sont sensibles à l'action des hormones sexuelles de synthèse. J'exposerai enfin dans une troisième et dernière partie quelques résultats obtenus par la méthode de greffes d'organes dans le cœlome extra-embryonnaire de l'embryon de Roussette.

Les présentes recherches ont été effectuées au Laboratoire de Zoologie et d'Embryologie expérimentale de l'Université de Strasbourg. C'est pour moi un très agréable devoir d'exprimer ici à mon Maître, M. le Professeur J.-H. Vivien, le témoignage de ma profonde reconnaissance. Il n'a cessé au cours de mon travail de me faire bénéficier de sa compétence et de son érudition. Sa grande bonté a été pour moi un inappréciable soutien.

PREMIÈRE PARTIE

L'ORGANOGENÈSE URO-GÉNITALE CHEZ LA PETITE ROUSSETTE

I. — MÉTHODES D'INVESTIGATION

Les œufs de Roussette qui ont fourni le matériel nécessaire à l'étude de l'organogenèse normale (I^re^ Partie) et à celle de l'action des hormones génitales sur la différenciation sexuelle (II^e^ Partie), provenaient tous du Laboratoire Arago de Banyuls-sur-Mer (Pyrénées-Orientales). Ils avaient été pondus dans l'aquarium du Laboratoire par des femelles capturées en haute mer. Ceux qui ont servi aux expériences de greffe dans le cœlome extra-embryonnaire (III^e^ Partie) avaient été extraits des utérus de Roussettes mortes, choisies sur les quais du port de Boulogne-sur-Mer (Pas-de-Calais) à l'arrivée des chalutiers d'Étaple. Tous les œufs ont été élevés dans un mélange de 90 0/0 d'eau de mer synthétique et à 10 0/0 d'eau de mer naturelle. Il importe, afin d'éviter une mortalité quasi générale, de maintenir la température d'élevage au-dessous de 20° C. A partir d'un certain stade du développement, une aération régulière de l'eau s'avère nécessaire.

Les embryons sacrifiés à différents stades ont été mesurés (*) depuis la pointe du museau jusqu'à l'extrémité de la queue avant d'être fixés au liquide de Bouin acétique. Les détails de morphologie externe ont été notés après examen à la loupe binoculaire. La tête et le tronc des embryons fixés ont été inclus à la paraffine et débités en coupes histologiques de 5 μ, transversales pour la plupart. Certaines pièces ont été coupées selon les plans longitudinal et frontal. Les coupes histologiques ont été colorées à l'hématoxyline ferrique de Regaud, éosine.

Les travaux relatifs au développement de l'appareil uro-génital des Élasmobranches sont particulièrement anciens. Ils ont été analysés à maintes reprises et utilisés pour la rédaction de nombreux ouvrages généraux d'Anatomie et d'Embryologie comparées. Dans cette première partie, j'exposerai de façon succincte et séparément pour chaque paragra-

(*) Dans l'exposé qui suit, les descriptions morphologiques seront faites par référence à la taille des embryons. Les stades morphologiques, tels que ceux établis par Balfour (1878), ne m'ont pas paru utilisables pour une étude précise et détaillée de l'organogenèse uro-génitale.

phe, les observations et les conclusions des différents auteurs, à propos des problèmes qui ont particulièrement retenu mon attention et qui ne me semblent pas avoir été résolus de façon définitive.

II. — LA PHASE D'INDIFFÉRENCE SEXUELLE

A. — Première phase de l'organogenèse gonadique.

On sait (Balfour, 1878), que les gonocytes, chez les Sélaciens, doivent effectuer une migration pour gagner leur emplacement définitif : les crêtes génitales. Woods (1902) étudiant de très jeunes embryons d'Acanthias, reconnaît les éléments germinaux dans le mésoblaste et dans l'hypoblaste extra-embryonnaires. De là, ces éléments gagnent « mystérieusement » la racine du mésentère dorsal qu'ils colonisent pour en faire le « territoire gonadique ».

La migration des cellules germinales étant un fait établi, on ne sait rien quant aux processus selon lesquels elle se réalise.

Je donne dans ce paragraphe un rapide aperçu des premières étapes de l'organogenèse et de la différenciation gonadique chez la petite Roussette.

Les éléments germinaux sont facilement reconnaissables par leur taille particulièrement grande, leur gros noyau à chromatine réticulée, les inclusions vitellines que renferme souvent leur cytoplasme aux stades jeunes (fig. 1). Chez l'embryon de 7 à 8 millimètres, les cellules germinales sont pour la plupart situées à l'angle dorsal du mésentère, intercalées parmi les cellules épithéliales de la splanchnopleure. Leur nombre est le plus grand au niveau des somites post-otiques 14-23 avec un maximum pour 16-17-18. La fréquence est sensiblement la même pour chacun des côtés, droit et gauche, de la splanchnopleure.

On peut rencontrer des éléments germinaux, isolés et en petit nombre en dehors de ce « territoire gonadique » :

— dans le même épithélium splanchnopleural mais en position plus ventrale ;

— dans l'épithélium somatopleural, latéralement par rapport aux ouvertures néphrostomiales ;

— dans le conjonctif, entre le feuillet splanchnopleural et l'épithélium intestinal ;

— dans le blastème interrénal, entre le mésentère dorsal et l'aorte.

Je n'ai pas observé de cellule germinale en avant du 12e somite post-otique.

— Les dispositions sont analogues chez l'embryon de 11-12 millimètres. Le mésentère est ici nettement plus pédiculisé qu'au stade précédent. Les cellules germinales situées dans l'épithélium mésentérique sont plus

rares. La majeure partie d'entre elles se trouve rassemblée dans l'épithélium cœlomique formant la voûte de la cavité générale, entre la racine du mésentère et le niveau de la lèvre interne des néphrostomes mésonéphrotiques (fig. 2).

On trouve encore, mais plus rarement des cellules germinales en dehors du territoire gonadique.

— Le pli gonadique est apparent au stade de 13-14 millimètres. Il procède d'une évagination dans la cavité générale de la partie de l'épithélium cœlomique colonisée par les cellules germinales. Chez l'embryon de 16-17 millimètres, cette ébauche est bien individualisée entre le 12e et le 25e somite post-otique, avec un développement maximum au niveau des 17e et 18e somites. On peut remarquer, dès ce stade que l'ébauche gauche est moins épaisse que son homologue de droite ; la différence est en outre plus nette dans la partie postérieure.

— Aucune indication de différenciation sexuelle n'est encore décelable chez l'embryon de 25 millimètres, si ce n'est, comme nous le verrons plus loin, au niveau du rein antérieur. L'extrémité antérieure de l'ébauche gonadique se situe au niveau du 4e segment rénal, son extrémité caudale au niveau du 22e. La figure 3 représente une coupe transversale de la gonade dans sa partie moyenne, à un niveau où son développement est le plus grand. On remarque que l'ébauche commence à se pédiculiser. L'épithélium qui l'entoure montre une zone épaissie bien distincte, contenant les éléments germinaux, on donne à cette zone le nom d' « épithélium germinatif ». Le « tissu médullaire gonadique » formant le noyau de l'ébauche est fait d'un stroma dense. Les cellules germinales, malgré leur grande taille ne font pas saillie dans la médulla : la limite entre épithélium germinatif et médulla est sensiblement rectiligne.

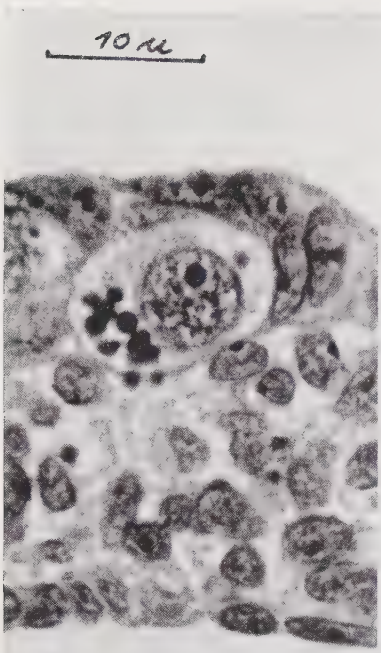
— Au stade de 27 millimètres aucun caractère morphologique ne permet encore de distinguer les ébauches gonadiques d'un embryon mâle de celles d'un embryon femelle. Pour l'un et l'autre sexe, les caractères histologiques sont ceux que l'on peut observer chez l'embryon de 25 millimètres. La gonade a gagné en largeur de sorte que l'épithélium germinatif ne la contourne plus latéralement mais reste limité à sa face dorsale.

— C'est au stade de 29-30 millimètres qu'apparaissent les premiers caractères distinctifs des deux sexes au niveau des gonades :

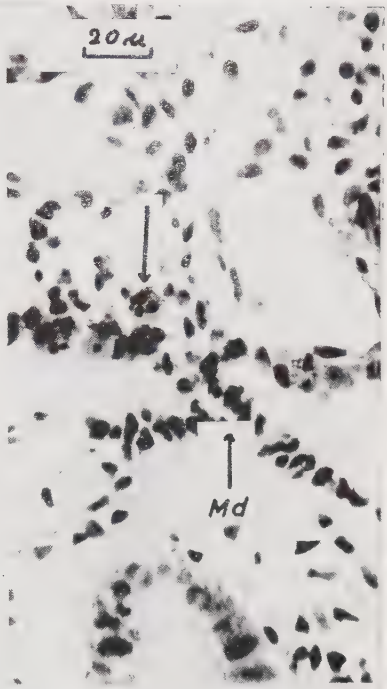
Fig. 1. — *23 millimètres.* Cellule germinale dans l'épithélium germinatif de la gonade.

Fig. 2. — *11,7 m.* Territoire gonadique colonisé par les éléments germinaux. La flèche indique une cellule germinale en dehors de l'épithélium cœlomique, dans le blastème interrénal.

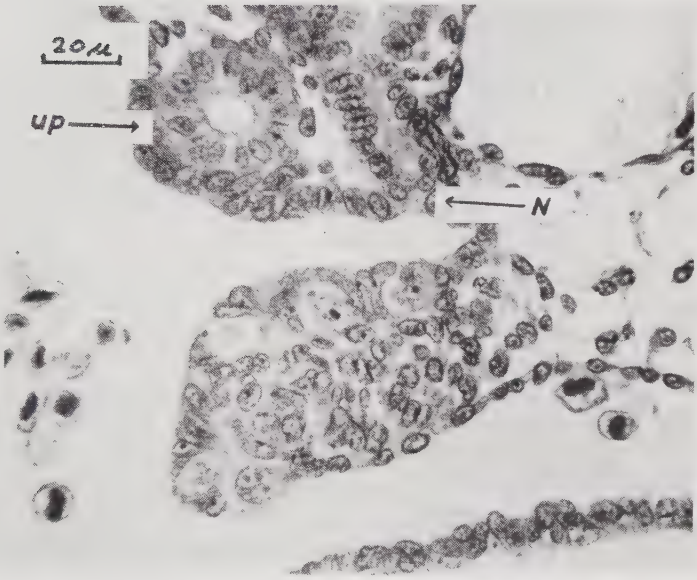
Fig. 3. — *25 millimètres.* Ébauche gonadique indifférenciée.



1



2



3

— La gonade femelle montre en coupe transversale une forme plus allongée.

— L'épithélium germinatif de la gonade femelle est plus épais.

— Épithélium germinatif et médulla sont distincts dans les gonades des deux sexes. On peut cependant remarquer que chez la femelle, la ligne de séparation des deux tissus est plus régulière que chez le mâle, où certaines cellules germinales, bien qu'appartenant encore au cortex,

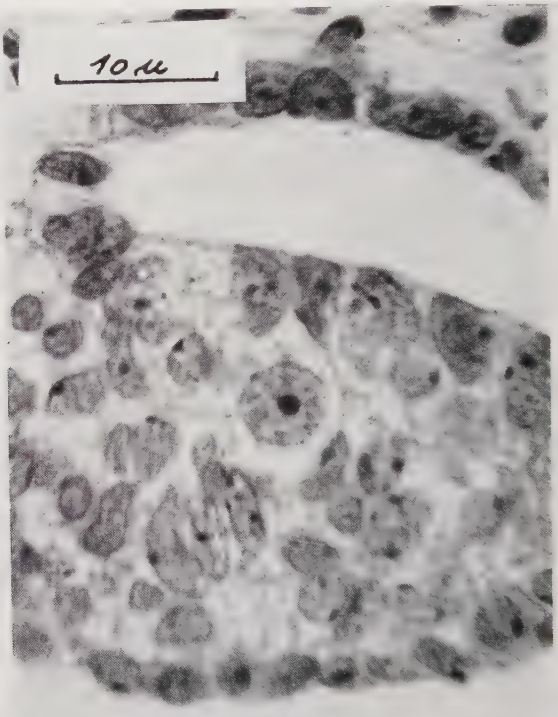


Fig. 4. — *29 millimètres*, mâle. Ébauche gonadique en voie de différenciation dans le sens mâle. Une cellule germinale se détache de l'épithélium germinatif pour migrer dans la médulla sous-jacente.

amorcent un mouvement de migration vers la médulla sous-jacente (fig. 4).

Le stade de 29-30 millimètres marque pour la gonade de la Roussette le début d'une évolution divergente qui conduira à la formation du testicule dans le sexe mâle, de l'ovaire dans le sexe femelle. Nous sommes au seuil de la différenciation dont l'évolution ultérieure sera décrite au chapitre III.

B. Les premières phases de l'organogenèse de l'appareil excréteur.

Sedgwick (1880) a le premier précisé l'origine des entonnoirs néphrostomiaux du mésonéphros dont l'existence avait été découverte par Semper en 1874 : ils ne résultent pas d'une évagination péritonéale mais correspondent au conduit qui, au niveau de chaque somite fait communiquer myocœle et cavité générale : ce conduit forme un entonnoir après s'être séparé du myotome.

Sur la base de cette observation, plusieurs auteurs (Ruckert, 1888-1889 ; Van Wyhe, 1889) ayant étudié les premières phases du développement de l'appareil excréteur voyaient, dans le pro- et le mésonéphros deux organes de nature différente, non homodynames.

Voici les raisons qui conduisent Van Wyhe à une telle conclusion :

1° Le pronéphros apparaît avant l'uretère primaire, le mésonéphros apparaît après.

2° Le pronéphros dérive de la somatopleure de la lame latérale. Ses cavités résultant d'évaginations du « métacœlome » (cavité générale). Le mode de formation du mésonéphros est différent : il est formé « aussi bien » par la somatopleure que par la splanchnopleure.

3° L'uretère primaire dérive du pronéphros, tandis que le mésonéphros établit secondairement des rapports avec ce conduit.

4° Le glomus du pronéphros — projection artérielle dans le métacœlome — n'est pas l'homologue des « corpuscules de Malpighi du mésonéphros, projections artérielles dans le mésocœlome (néphrocèle).

Ruckert voit dans le fait que des tubules mésonéphrotiques apparaissent au niveau de la région du pronéphros une autre raison de distinguer ces deux organes.

Une interprétation différente nous est proposée par Rabl (1896), Borcea (1905). Ces auteurs reconnaissent qu'il convient de distinguer « deux catégories d'évaginations cœlomiques » (Borcea), mais soutiennent que toutes deux dérivent du feuillet pariétal de la pièce intermédiaire. Le rôle de la paroi interne dans l'édification du tube cœlomique mésonéphrotique est négligeable. Il ne s'agirait pas de « deux appareils excréteurs différents... » mais des « parties d'un même appareil, semblables d'abord, qui se sont différenciées dans le temps en deux directions différentes : les unes se sont de plus en plus différenciées pour la fonction sécrétrice et les autres pour former les canaux évacuateurs de différents ordres » (Borcea, 1905, p. 340).

En 1914, Burlend publie un travail sur le développement du pronéphros chez *Scyliorhinus caniculus*. Il conclut que l'ébauche, n'étant pas métamérisée, dérive du feuillet somatique du mésoderme de la lame latérale.

Mes propres observations permettent d'apporter quelques précisions

sur les premières phases du développement de l'appareil excréteur chez la Roussette, et plus particulièrement sur l'origine du pronéphros et sur son étendue. Je puis donner également des précisions sur le mode de formation des tubules mésonéphrotiques primaires (canaux segmentaires) et sur leur place dans la métamérie générale du tronc.

1. *Mise en place du pronéphros.*

La première différenciation de l'appareil excréteur apparaît chez l'embryon de Roussette au stade de 25 somites (3,5 mm. environ) sous la forme d'un épaississement de ce que l'on peut considérer comme la partie la plus dorsale du feuillet somatique de la lame mésodermique insegmentée. Ce repli cellulaire plein représente l'ébauche pronéphrotique ; il est continu et s'étend de chaque côté au niveau des somites (post-otiques) 7, 8 et 9.

L'ébauche du pronéphros atteint son développement le plus complet au stade de 45 somites qui correspond à une taille de 5,5 à 6 millimètres. Le bourrelet pronéphrotique, à ce stade, intéresse les segments 7, 8 et la moitié proximale du segment 9. Au-delà de ce niveau, le pronéphros est prolongé par un cordon cellulaire, ébauche de l'uretère primaire qui s'étend vers l'arrière jusqu'au 18^{e} segment. Les cellules de la crête pronéphrotique se sont orientées autour d'un axe longitudinal.

Du côté droit, le pronéphros communique avec la cavité cœlomique par trois ouvertures néphrostomiales : la première qui marque l'extrémité céphalique de l'ébauche est allongée en gouttière entre les segments 7 et 8. Les deux autres se situent respectivement aux niveaux du milieu et de la partie postérieure du 8^{e} somite (fig. 5, 6, 7 et 8).

Du côté gauche on ne trouve que deux ouvertures néphrostomiales : la première, comme son homologue de droite entre les somites 7 et 8, la seconde à la partie postérieure du 8^{e}.

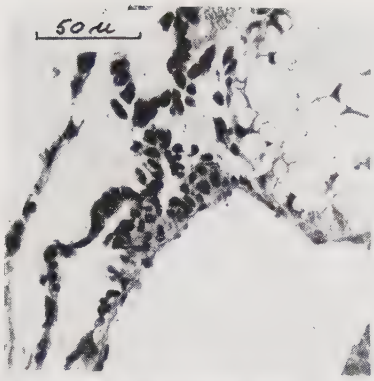
Chez l'embryon de 8 millimètres (70 somites environ) le 3^{e} néphrostome

Fig. 5. — *5,3 mm.* Niveau moyen du 7^{e} somite droit. Épaississement et formation en gouttière de la partie dorsale de la lame latérale correspondant au 1er néphrostome de l'uretère primaire. Diverticule épithélial du feuillet splanchnique en regard de cette gouttière.

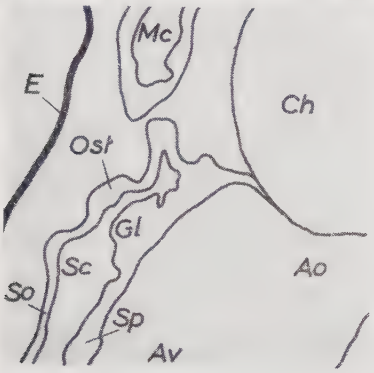
Fig. 6. — *5,3 mm.* Partie antérieure du 8^{e} somite droit. Coupe passant immédiatement en arrière du premier néphrostome de l'uretère primaire.

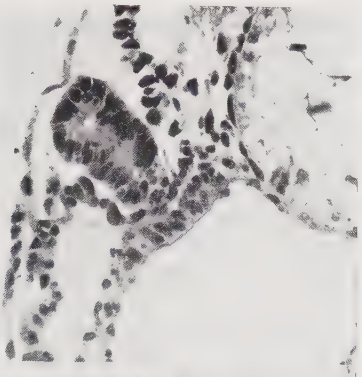
Fig. 7. — *5,3 mm.* Partie moyenne du 8^{e} somite droit. 2^{e} ouverture néphrostomiale de l'uretère primaire.

Fig. 8. — *5,3 mm.* Limite entre les 8^{e} et 9^{e} somites droits. 3^{e} invagination néphrostomiale du pronéphros, sans communication avec l'uretère primaire à ce stade.

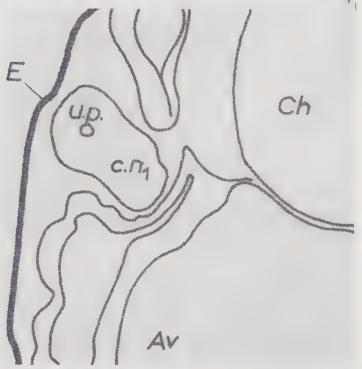


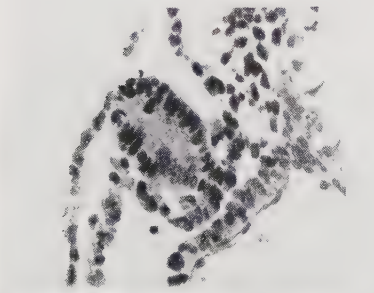
5



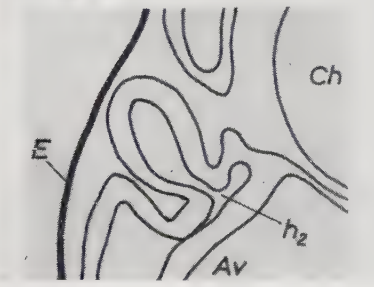


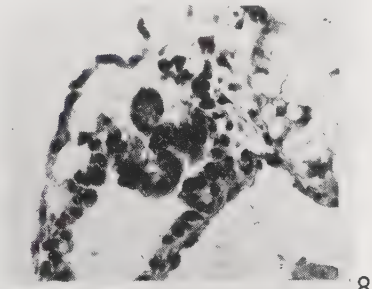
6



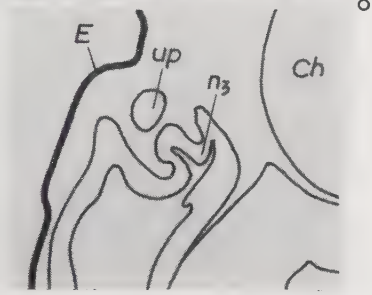


7





8



du côté droit a disparu de sorte que l'uretère primaire est séparé de la paroi cœlomique immédiatement en arrière du second néphrostome.

Au stade de 11 millimètres, l'uretère primaire gauche s'ouvre dans le cœlome par un seul orifice qui correspond au premier néphrostome du pronéphros. Les vestiges du second s'observent sous la forme d'un pont cellulaire unissant l'uretère primaire à l'épithélium cœlomique au niveau du 8e segment. A droite deux orifices subsistent, le premier plus étendu que le second qui disparaîtra chez l'embryon de 12 millimètres.

A ce stade donc, chaque uretère primaire s'ouvre dans la cavité cœlomique à son extrémité antérieure par un orifice au niveau du 7e somite post-otique. Comme nous le verrons plus loin, c'est par la fusion de ces deux orifices sur la ligne médiane que se constituera l'ostium des voies génitales femelles.

Ayant étudié l'ébauche pronéphrotique d'un nombre assez grand d'embryons de Roussettes (38 individus dont les tailles s'échelonnent entre 3 et 13 millimètres) je crois pouvoir dire que l'évolution qui vient d'être décrite concerne la majorité des cas. Mais il est bon de noter que chez certains individus les dispositions peuvent être légèrement différentes. J'ai par exemple dans mes collections un individu dont le 3e néphrostome s'ouvre incontestablement au niveau de la région antérieure du 9e somite, un autre qui laisse tout lieu de supposer que l'ostium gauche ne représente pas seulement le premier néphrostome et qu'une partie du second lui est adjointe. Ce sont là des variations de détail, qui montrent l'importance du facteur individuel, et qui peuvent dans une certaine mesure expliquer les contradictions relevées dans les rapports des auteurs.

Cette rapide étude de l'évolution de l'ébauche pronéphrotique chez la Roussette nous a montré certains faits qui méritent une attention particulière :

1° Le pronéphros est à l'origine une ébauche continue ne présentant pas trace de métamérisation ; c'est la raison pour laquelle nous avons dit plus haut qu'il prenait naissance à partir de la lame latérale insegmentée. La segmentation qui l'affecte aux stades ultérieurs est sans rapport avec la métamérie du corps de l'animal : la disposition des néphrostomes (aussi bien d'ailleurs que celle des artères pronéphrotiques) l'atteste.

2° Il semble difficile de distinguer chez la Roussette un canal collecteur (*Sammelrohr der Vornieren* = *Vornierentheil des Vornierenganges* de Rabl) drainant l'ensemble des canalicules du pronéphros, et un uretère primaire qui le prolongerait caudalement. Je considère donc le pronéphros comme une région particulière de l'uretère primaire au niveau de laquelle celui-ci est en communication avec la cavité générale.

3° Cette remarque nous amène à poser la question délicate des limites dans le sens cranio-caudal — du « territoire pronéphrotique ». On peut, pour répondre, se baser sur deux critères :

a) Le territoire pronéphrotique est limité par l'extension de l'épaississement primitif du feuillet somatopleural à l'angle dorso-latéral de la

cavité cœlomique. Cette ébauche qui est en place dès le stade de 25 somites s'étend au niveau des somites post-otiques 7, 8 et 9. Elle peut même, chez certains individus atteindre la région antérieure du 10e segment.

b) L'étendue de ce territoire sera plus restreinte, limitée à la moitié postérieure du 7e somite à laquelle s'ajoute le 8e somite, si l'on considère le pronéphros comme défini par les différenciations (néphrostomes) qu'il présente.

2. *Origine et premières étapes du développement du mésonéphros.*

C. Rabl (1896) est certainement l'auteur qui a donné de la formation des canalicules du mésonéphros la description la plus claire. Les trois schémas que l'on trouve à la page 705 (fig. 25, 26 et 27) de son mémoire sont particulièrement explicites et suffisent à montrer l'origine de ces formations.

Dans une première phase, les deux feuillets de la pièce intermédiaire *(Urwirbelkommunikation)* sont prolongés dorsalement par les deux feuillets correspondants du scléromyotome et ventralement par la somatopleure et la splanchnopleure de la cavité générale. A ce stade donc, au niveau de chaque segment du tronc, les trois cavités cœlomiques : myocèle, néphrocèle et splanchnocèle communiquent entre elles. En coupe transversale la pièce intermédiaire se présente obliquement, sa partie dorsale rejetée vers l'extérieur. Son feuillet somatique est formé d'un épithélium épais à cellules cylindriques, son feuillet splanchnique est plus ténu et participe, dans sa partie dorsale, à la formation du mésenchyme axial.

A un stade plus avancé, le scléromyotome s'est séparé de la pièce intermédiaire. Celle-ci, dont il ne reste, du feuillet splanchnique, que la partie la plus ventrale, prend l'aspect d'un entonnoir ouvert dans la cavité générale et dont le fond, dirigé vers l'extérieur, surplombe l'uretère primaire. Le petit tube aveugle ainsi formé représente la première ébauche du néphron mésonéphrotique. La partie communiquant avec le splanchnocèle a la valeur d'un néphrostome, primaire par définition. Son feuillet ventral est formé par la somatopleure, son feuillet dorsal par une partie (ventrale) de la splanchnopleure. La cavité du cæcum ainsi formé représente la partie la plus ventrale du néphrocèle primitif.

Le néphron mésonéphrotique s'organise donc aux dépens d'une partie seulement de la pièce intermédiaire. C'est la raison pour laquelle Rabl nomme ce territoire du mésoderme « *Urwirbelkommunikation* » et non pas « Nephrotome » comme le fait Ruckert (1892).

Au cours du développement ultérieur, qui conduira à la formation du canal mésonéphrotique primaire complet *(Urnierenkanälchen)*, ouvert d'une part dans la cavité générale et d'autre part dans l'uretère primaire, c'est principalement la paroi latérale intermédiaire qui proliférera, la paroi splanchnique ne formant que le bord interne de l'ouverture néphrostomiale.

Les observations de Rabl ont porté principalement sur les embryons de *Pristiurus melanostomus* avec quelques références au développement de *Torpedo marmorata* et de *Scyliorhinus catulus*. Mes observations m'ont montré que ces processus sont en tous points semblables chez la petite Roussette. Je ne donnerai donc que des précisions chronologiques et topographiques concernant les premières étapes de la différenciation du mésonéphros chez la petite Roussette.

J'appelle « canal segmentaire », le conduit épithélial qui, dans une première étape de l'organogenèse mésonéphrotique conduit du cœlome à l'uretère primaire au niveau de chaque segment et « tube cœlomique » l'ébauche de ce conduit, formation en cæcum ouvert dans la cavité générale et dérivée de la partie ventrale de la pièce intermédiaire. Les cavités cœlomiques du myotome (myocèle), de la pièce intermédiaire (néphrocèle) et la cavité générale seront respectivement désignées par les symboles C1, C2 et C3 dans l'exposé qui va suivre.

1° *Chez l'embryon de 5 millimètres*, C1, C2 et C3 communiquent entre elles au niveau de chaque segment depuis le 4e somite post-otique jusque dans la région cloacale.

2° *Au stade de 6 millimètres*, cette continuité des cavités cœlomiques existe encore, mais les processus qui aboutiront à la séparation de la pièce intermédiaire et du myotome sont nettement amorcés dans la région antérieure du tronc. La figure 10 montre en coupe transversale l'uretère primaire et l'ébauche mésonéphrotique du côté droit au niveau de la partie moyenne du 9e somite. S'il n'est pas encore complètement individualisé, le tube cœlomique est parfaitement reconnaissable. On remarque sa position oblique, son feuillet ventral fortement épaissi contournant le bord dorsal interne de l'uretère primaire. La limite entre les parties néphrotomiale et myotomiale de la plaque somitique est particulièrement nette, indiquée par la différence d'épaisseur de l'épithélium somatique et par le léger infléchissement ventral de l'extrémité distale du tube. Largement ouvert dans la cavité générale au niveau de la racine du mésentère dorsal, le tube cœlomique s'amincit vers son extrémité distale où les deux feuillets qui le bordent montrent une nette tendance à fusionner. Toutefois, la soudure n'étant pas encore réalisée, les deux cavités cœlomiques C1 et C2 communiquent par un isthme très étroit.

En avant de cette coupe, figure 9, on note que le tube cœlomique est complètement individualisé. Plus en arrière, figure 10, on se trouve à la limite postérieure de l'entonnoir, dont la lumière n'est plus visible.

La coupe représentée à la figure 12, passant par la partie tout à fait postérieure du 10e somite nous montre une concentration de cellules épithéliales coiffant dorsalement l'uretère primaire et qui représentent l'ébauche de la vésicule moyenne correspondant au second canal segmentaire. Ces cellules résultent de la prolifération vers l'arrière de l'extrémité distale du feuillet somatique du tube cœlomique.

La différenciation mésonéphrotique est beaucoup moins avancée dans

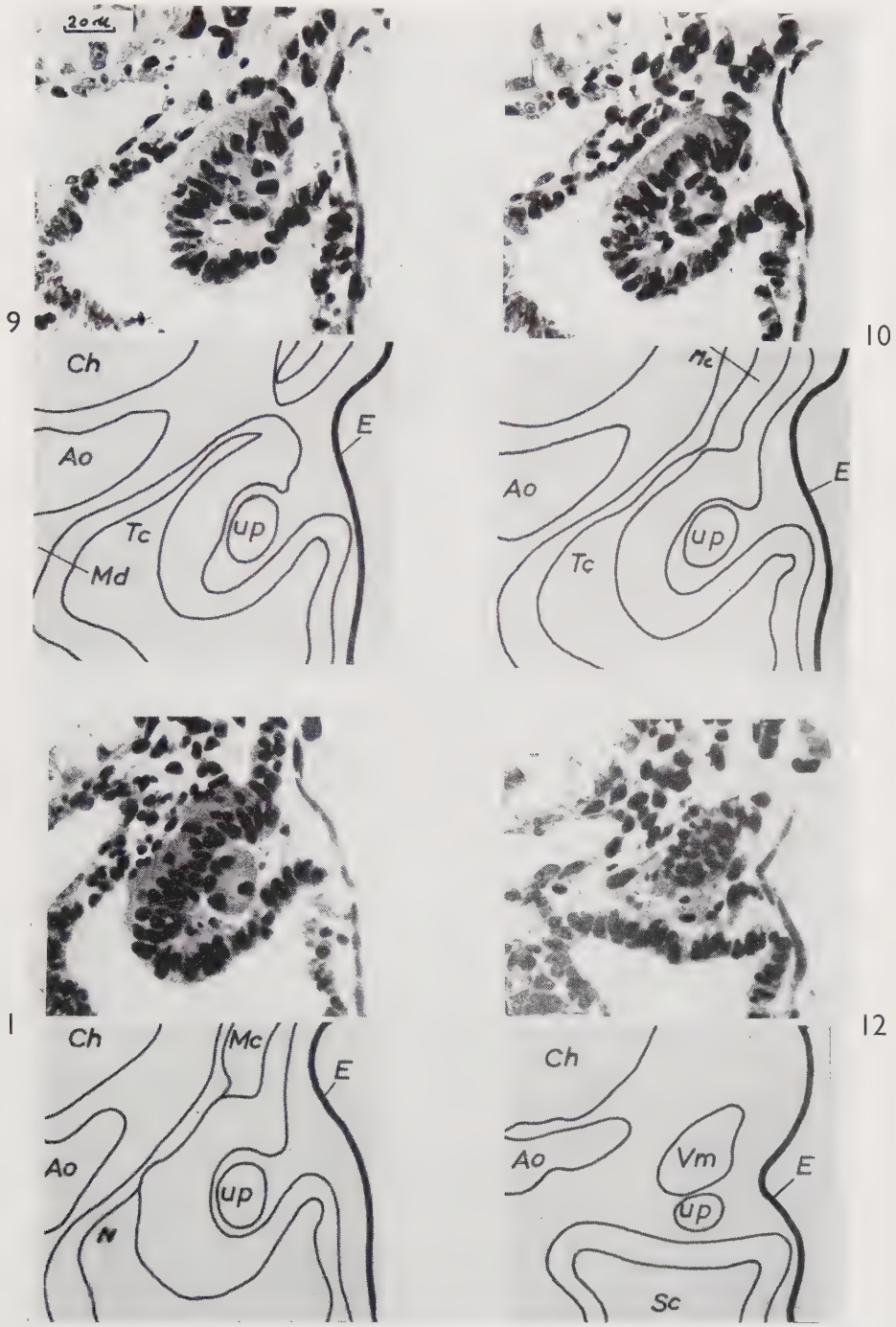


Fig. 9, 10, 11 et 12. — *6 millimètres*. Coupes successives, d'avant en arrière, montrant la structure d'un tube cœlomique en formation.

la région postérieure du tronc. Au niveau du 24e somite où a été faite la coupe représentée à la figure 13, on voit que la limite entre le futur tube cœlomique et la partie plus dorsale du somite n'est pas nettement marquée. La communication entre C1 et C2 est large, les coupes antérieures montrent que le processus de séparation n'est pas encore commencé.

Particulièrement intéressante est l'étude des dispositions que l'on peut observer au niveau et en avant de la région pronéphrotique.

La figure 14 montre qu'au niveau du 4e somite post-otique, on ne trouve plus que des vestiges de l'ancienne pièce intermédiaire unissant la cavité générale au myocèle.

Au segment suivant (5e somite, fig. 15) on remarque que C1 et C2 communiquent entre elles. Le feuillet somatique de la pièce intermédiaire est nettement épaissi. La pièce intermédiaire elle-même a l'aspect d'un entonnoir évasé vers le bas que l'on peut aisément comparer à l'ébauche du tube cœlomique décrite au niveau du 9e somite.

On retrouve les mêmes dispositions pour le 6e somite à cela près que du côté droit, la saillie ventrale de l'aorte (départ de l'artère vitelline) repousse la splanchnopleure de la pièce intermédiaire contre la somatopleure de sorte que la communication C2-C3 est très étroite.

Au niveau du 7e somite, l'artère vitelline traverse la masse viscérale dans le sens dorso-ventral en refoulant l'épithélium splanchnopleural formant la voûte de la cavité générale à droite du mésentère dorsal. La figure 16 montre que splanchnopleure et somatopleure sont soudées au niveau où s'esquisse la gouttière du premier néphrostome du pronéphros. Dorsalement, on reconnaît l'ébauche d'un tube cœlomique avec épithélium somatique épaissi. Du côté gauche, où les dispositions ne sont pas altérées par le départ d'un gros vaisseau sanguin, l'ébauche du tube cœlomique est visible en avant du premier néphrostome du pronéphros.

L'ébauche du tube cœlomique correspondant au 8e somite (fig. 17) est très comparable aux structures homologues des segments qui lui font suite.

3° *Chez l'embryon de 10,5 mm.*, les tubes cœlomiques correspondant aux somites 5, 6 et 7 sont oblitérés par pincement des feuillets (fig. 18). Il ne reste de la pièce intermédiaire qu'une traînée de cellules épithéliales

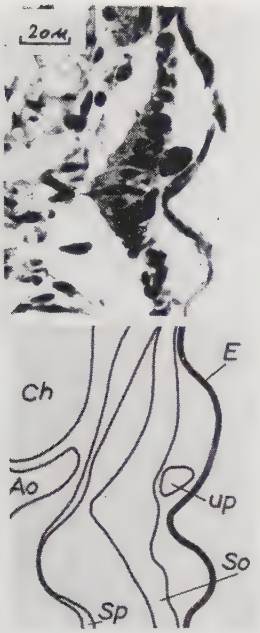
Fig. 13. — *6 millimètres.* 24e somite droit.
Le tube cœlomique n'est pas encore individualisé à ce niveau.

Fig. 14. — *6 millimètres.* 4e somite droit. Vestiges de la pièce intermédiaire.

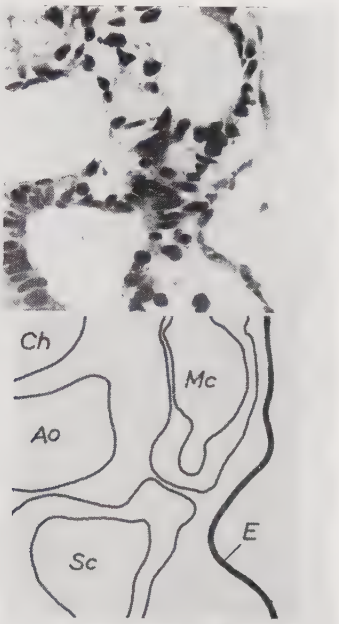
Fig. 15. — *6 millimètres.* 5e somite droit.
Communication entre myocèle, néphrocèle et splanchnocèle.

Fig. 16. — *6 millimètres.* 7e somite droit. Ébauche de tube cœlomique au niveau de la première ouverture néphrostomiale du pronéphros.

13



14



15

16

en dégénérescence. Le myotome resté en position très latérale, prolifère ventralement pour donner les plaques myotomiales.

Au niveau du 8e somite (fig. 19) on observe la présence d'un court tube dont l'ouverture cœlomique se situe immédiatement au-dessus de la lèvre dorsale du premier néphrostome du pronéphros, à droite comme à gauche.

Plus en arrière, les processus que nous avons décrits au stade précédent ont évolué. Le tube cœlomique est nettement séparé du myotome mais toujours sans rapport avec l'uretère primaire.

Dans la région postérieure du tronc, l'évolution est beaucoup moins avancée, les tubes cœlomiques se présentant encore dans le prolongement ventral des feuillets du myotome.

4° *Au stade de 12 millimètres* les tubes cœlomiques sont à l'état de vestiges jusqu'au 7e somite inclus. Au niveau du 8e par contre, on peut constater une nette évolution depuis le stade précédent (comparer fig. 20 et fig. 19) : le tube cœlomique présente les structures caractéristiques à ce stade ; canalicule néphrostomique et ébauche de vésicule moyenne, que l'on retrouve au niveau des segments immédiatement postérieurs.

5° *Au stade de 17 à 20 millimètres* la première phase de l'évolution du mésonéphros (formation de canaux segmentaires complets communiquant avec l'uretère primaire : stade « néphridioïde » de Borcea) est achevée. Chaque canal segmentaire présente alors trois parties : *a)* un *canalicule néphrostomial* (à trajet remontant, ventro-dorsal) s'ouvrant dans la cavité générale par un entonnoir néphrostomial et aboutissant dans une *b) vésicule moyenne* résultant de la dilatation du fond aveugle du tube cœlomique. Cette vésicule moyenne est mise en communication avec l'uretère primaire par l'intermédiaire d'un *c) canalicule de réunion* (trajet descendant dorso-ventral) dont on a tout lieu de penser qu'il procède à la fois de l'ébauche mésonéphrotique dorsalement et de l'uretère primaire ventralement.

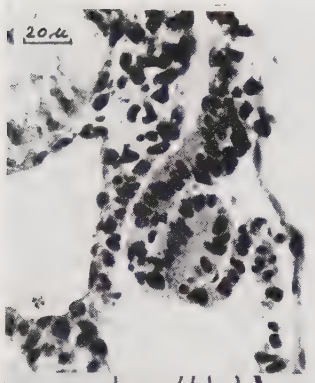
L'étude comparative des 30 paires de canaux segmentaires chez l'embryon de ce stade montre que le diamètre des vésicules moyennes va s'agrandissant de l'avant vers l'arrière et que leur lumière n'est bien formée qu'au niveau du tiers postérieur du tronc. Le canalicule de réunion suit le même « gradient » d'évolution céphalo-caudal. Inversement, il est très net que les canalicules néphrostomiaux sont beaucoup mieux déve-

Fig. 17. — *6 millimètres.* 8e somite droit.

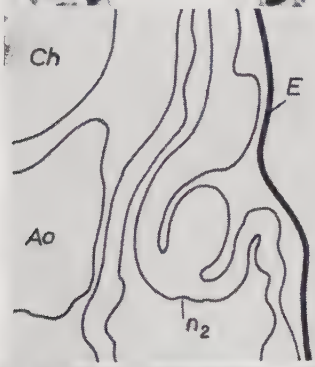
Fig. 18. — *10,5 mm.* 5e somite droit.

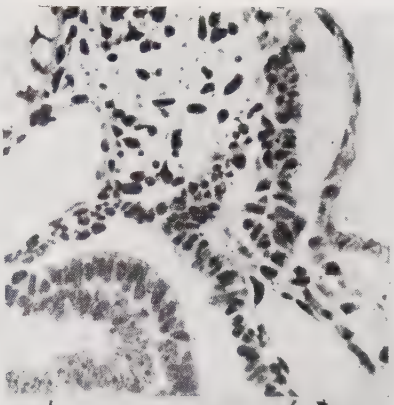
Fig. 19. — *10,5 mm.* 8e somite droit, limite postérieure du premier néphrostome du pronéphros avec, dorsalement, l'ébauche d'un tube cœlomique.

Fig. 20. — *11,7 mm.* 8e somite gauche.
Limite postérieure du premier néphrostome du pronéphros.

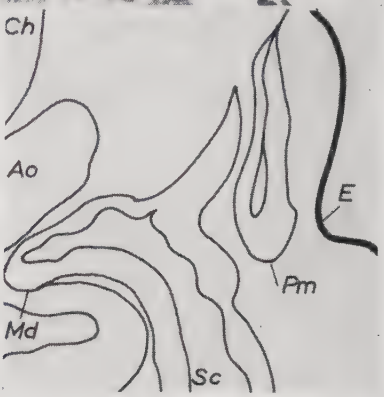


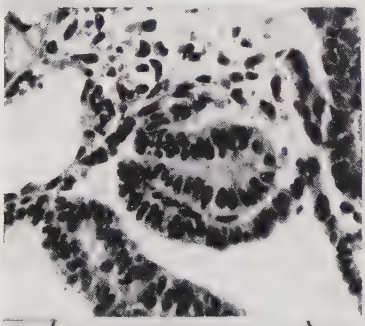
17



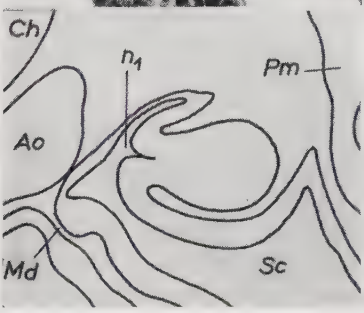


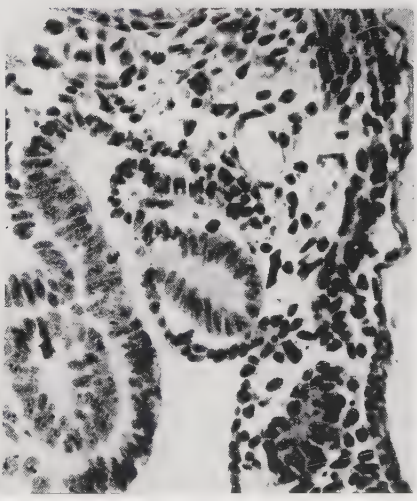
18





19





20

loppés dans la région antérieure (lumière large, épithélium épais) que dans la région postérieure où l'on peut considérer que, pour les 6 derniers, la lumière canaliculaire n'a jamais existé.

Ces observations conduisent à une remarque importante : on sait que les corpuscules de Malpighi primaires, secondaires... ainsi que les canaux collecteurs du rein fonctionnel s'organisent à partir de la vésicule moyenne (ou plus précisément d'une partie — distale — de celle-ci) et du canalicule de réunion du canal segmentaire primitif. Les canalicules néphrostomiaux ne prennent aucune part à la formation du rein fonctionnel qui perd donc toute relation avec la cavité générale. Ils régressent ou donnent des formations vestigiales, les plus antérieures contribuant chez le mâle à l'établissement des connexions uro-génitales. Sur la base de ces données, nous pouvons légitimement considérer qu'au stade de 16 millimètres envisagé, l'état de développement est plus avancé dans la partie postérieure du tronc que dans sa partie antérieure. Nous avons vu d'autre part qu'au cours de l'organogenèse des canaux segmentaires, la formation des tubes cœlomiques se fait selon un processus qui s'étend de l'avant vers l'arrière. Nous assistons donc à un développement accéléré dans la région postérieure : les structures ne devant pas participer à l'édification du rein fonctionnel apparaissent avec retard et ne sont qu'ébauchées, tandis que celles qui en constituent le point de départ, prennent immédiatement une avance appréciable sur leurs homologues des segments antérieurs.

Le stade « néphridioïde », mettant en rapport la cavité générale avec l'uretère primaire doit être considéré dans l'ontogenèse de l'appareil excréteur de la Roussette, comme un terme de passage, non fonctionnel, à caractère récapitulatif. Nos observations nous montrent que si ce stade est bien caractérisé dans la région céphalique, il l'est beaucoup moins dans la région cloacale. Dans une même espèce, chez un même individu, les modalités du développement diffèrent de façon sensible suivant qu'on s'adresse à l'une ou l'autre partie du territoire néphrogène. La partie postérieure présente un développement nettement plus condensé que la partie antérieure, évoquant en cela davantage le type de développement que l'on connaît chez les Vertébrés supérieurs.

Une dernière et très importante remarque doit être faite à propos de ce stade néphridioïde. Cinq embryons sur les douze examinés à ce stade ne présentent pas rigoureusement les dispositions que je viens de décrire : les canaux segmentaires antérieurs, au nombre de 5 à 7 selon les individus et le côté considéré, sont incomplets, le premier pouvant être réduit à une traînée de cellules épithéliales entre l'uretère primaire et la veine cardinale postérieure, les suivants n'étant formés que d'un néphrostome, d'un tube cœlomique et d'une ébauche de vésicule moyenne. Ces canaux segmentaires se distinguent de tous ceux qui leur font suite par l'absence du canalicule de réunion ; ils ne communiquent pas avec l'uretère primaire. L'étude d'embryons à des stades plus avancés montre qu'une telle communication ne s'établira pas et que ce sont là les dispositions propres au sexe

femelle (fig. 25). Nous retiendrons donc que chez l'embryon de Roussette mesurant 17-20 millimètres apparaît un caractère morphologique qui permet de distinguer les sexes, en soulignant qu'à ce stade les ébauches gonadiques, encore très rudimentaires, sont parfaitement indifférenciées, les premiers indices de la différenciation ne devant se manifester, comme il a déjà été indiqué, qu'au stade 29-30 millimètres.

L'évolution divergente des segments antérieurs du rein précédant celle des gonades, avait été clairement décrite par Rabl dès 1896 à propos de Pristiurus, mais n'a plus été relevée, à ma connaissance, dans les travaux accomplis ultérieurement et qui avaient trait à la différenciation sexuelle des Sélaciens. Il n'en est pas fait mention dans les récents traités d'Embryologie et d'Anatomie comparée que j'ai eu l'occasion de consulter.

Au terme de cette étude de la première phase du développement de l'appareil excréteur chez la Roussette, je voudrais évoquer un problème qui a fait l'objet de nombreuses controverses et qui ne semble pas avoir été résolu de façon satisfaisante jusqu'à ce jour : pro- et mésonéphros sont-ils deux appareils excréteurs différents, ou deux parties différentes d'une même ébauche ?

J'ai affirmé que l'ébauche pronéphrotique provient d'une partie non métamérisée du mésoderme et j'en ai donné les raisons. Rabl interprétait les choses de manière différente : l'ébauche pronéphrotique appartient à la partie ventrale du somite, mais apparaît à un stade où la pièce intermédiaire n'est pas encore « différenciée ». Au moment où la paroi latérale du somite prolifère en direction ventrale, entre somatopleure et ectoderme, la pièce intermédiaire s'individualise et les orifices du pronéphros, placés ventralement par rapport à celle-ci, s'ouvrent dans la cavité générale. Cette interprétation ne rend pas compte du fait que le bourrelet pronéphrotique est, à l'origine, une ébauche continue existant aussi bien au niveau des somites qu'aux niveaux intersegmentaires. Si l'on convient d'appeler segments primordiaux et lame latérale les parties respectivement métamérisées (dorsales) et non métamérisées (ventrales) du mésoderme troncal, il semble raisonnable de considérer que l'ébauche pronéphrotique procède de la lame latérale. Il s'ensuit que le « néphrotome », si l'on désigne par ce nom la partie du mésoderme qui est à l'origine de l'appareil excréteur de la Roussette, est formé par du matériel provenant de la pièce intermédiaire en même temps que de la lame latérale insegmentée, dans la région antérieure, pronéphrotique du tronc.

En ce qui concerne les ébauches mésonéphrotiques, s'il semble difficile d'affirmer que la lame latérale ne prend aucune part à la formation des tubes cœlomiques, il est par contre évident que ce sont là des formations segmentaires liées à la métamérie générale.

La présence de formations mésonéphrotiques au niveau du territoire du pronéphros mérite d'être soulignée. En l'absence de confirmation expérimentale on ne peut prétendre que les structures décrites en avant du pronéphros (somites 5, 6 et 7) sont les homologues des tubes cœlomiques en formation. La similitude des dispositions, en particulier l'épais-

sissement du feuillet somatique au niveau du pédicule du somite (comparer fig. 16 et 17) serait pourtant en faveur d'une telle interprétation. Ce qui est hors de doute par contre, c'est que la pièce intermédiaire correspondant au 8e somite ébauche un canal segmentaire : au stade de 12 millimètres (fig. 20) on peut voir superposés sur une même coupe transversale un orifice pronéphrotique et l'ouverture d'un tube cœlomique.

C. — Formation du rein urinipare.

Borcea donne une très bonne description de la transformation des canaux segmentaires en rein.

L'ébauche du corpuscule de Malpighi primaire est reconnaissable chez l'embryon de 2,2 mm. : la partie terminale de la vésicule moyenne, en continuité avec le canalicule de réunion, se renfle en bourgeon dans la partie postérieure du tronc : de part et d'autre (aux bords antérieur et postérieur) de cette ébauche, un épaississement de la vésicule moyenne indique l'origine des corpuscules de Malpighi et des canalicules rénaux secondaires.

Le canalicule rénal primaire et le corpuscule de Malpighi qui lui correspond se forment donc aux dépens du canalicule de réunion et d'une partie (distale) de la vésicule moyenne. Des lobes épithéliaux, constitués à partir du reste de la vésicule moyenne se développent dans un blastème néphrogène environnant pour aboutir à la constitution de canalicules rénaux secondaires, tertiaires, etc. Aux débuts de ces processus, chez Scyliorhinus, les corpuscules de Malpighi primaires (parfois même les corpuscules de Malpighi secondaires) restent en relation avec ce qui subsiste de la vésicule moyenne par l'intermédiaire de petits canalicules. Borcea attribue à ces formations la valeur de canalicules néphrostomiaux du second ordre car ils mettent en relation les corpuscules de Malpighi avec la cavité générale.

Par suite de l'apparition de canalicules rénaux secondaires, tertiaires, etc., le rein acquiert une métamérie secondaire qui ne correspond plus à la métamérie des canaux segmentaires primitifs.

Au cours de l'ontogenèse, les segments postérieurs montreront constamment un état de développement plus avancé. J'ai indiqué d'ailleurs que ce décalage est perceptible dès le stade néphridioïde.

III. — LES PROCESSUS DE LA DIFFÉRENCIATION SEXUELLE

Au cours de l'ontogenèse apparaissent chez l'individu un certain nombre de particularités morphologiques, physiologiques et psychiques qui font que cet individu appartient à un sexe défini et qui le distinguent

du sexe opposé. Ces caractères sexuels peuvent être groupés en catégories différentes (Benoit, 1950).

1° *Caractères sexuels primordiaux.* — Ils sont déterminés, lors de la fécondation par l'apport des gamètes en gènes sexuels (« Balances géniques » de Bridges). Les caractères sexuels primordiaux commandent l'orientation sexuelle future de l'individu, conformément à son « sexe génétique », dans le sens mâle ou femelle.

2° *Caractères sexuels primitifs* — Glandes génitales : leur différenciation résulte du développement préférentiel de l'un de leurs constituants somatiques : cortex ou médulla.

3° *Caractères sexuels primaires.* — Organes sexuels dont la différenciation est très précoce, contrôlée par des mécanismes hormonaux émanant de la gonade embryonnaire : voies évacuatrices des produits génitaux, glandes annexes, ébauches des organes d'accouplement...

4° *Caractères sexuels secondaires.* — Ils apparaissent au moment de la maturité sexuelle et résultent essentiellement de l'exaltation des caractères sexuels primaires différenciés précédemment, ou du développement de caractères saisonniers.

La notion de « différenciation sexuelle » chez les Vertébrés a été acquise à la suite d'études embryologiques qui ont permis de se rendre compte que, pendant une phase précoce de son développement, le jeune organisme montre à l'état d'ébauches, les attributs propres à son sexe génitique aussi bien que ceux caractérisant le sexe opposé : cette période de la vie est appelée « phase d'indifférence sexuelle ». Pour l'ensemble du groupe on s'accorde à considérer que la différenciation sexuelle est amorcée au moment où apparaissent, au niveau de la gonade, les activités antagonistes des constituants du couple cortico-médullaire. Elle se poursuit par étapes jusqu'au moment de la maturité, chaque caractère sexuel ayant sa différenciation propre au cours de laquelle il est orienté vers l'une des deux organisations, caractéristiques du sexe de l'individu.

A. — Différenciation sexuelle des gonades.

On connaît le schéma général de la différenciation gonadique chez les Vertébrés supérieurs (Oiseaux, Mammifères).

Au cours d'une première phase d'activité, commune aux deux sexes, les gonocytes en partie ou en totalité, et certains éléments somatiques qui les entourent, primitivement localisés dans l'épithélium germinatif, sont entraînés dans la médulla où ils forment des « cordons sexuels ». Cette « première poussée », qui a pour effet chez le mâle d'entraîner la totalité des gonocytes et qui n'en entraîne qu'une partie chez la femelle, ne tarde pas à avorter chez celle-ci ; les gonocytes entraînés dégénèrent. Dans le sexe mâle, les cordons sexuels prolifèrent, se creusent et forment des tubes ou des ampoules où s'élabore la spermatogenèse. Une deuxième

poussée de l'épithélium germinatif intervient dans le sexe femelle, reste superficielle et constitue le « cortex » qui est la partie germinative fonctionnelle de la glande. La gonade ne commence donc sa différenciation sexuelle qu'à partir du moment où les cordons sexuels de première poussée évoluent différemment.

Les observations anciennes, principalement celles de Semper, permettaient de rapporter la différenciation gonadique des Sélaciens au type général des Batraciens et des Vertébrés supérieurs. Un travail récent de Chieffi est venu confirmer cette opinion. L'auteur étudie le problème chez deux espèces, la Torpille et la petite Roussette en portant plus spécialement son attention sur la migration des cellules germinales dans la médulla (1949-1950) et sur l'organogenèse de la médulla (1951). Il observe des cellules germinales dans le tissu médullaire de gonades femelles déjà différenciées et conclut qu'à un stade précoce de leur développement, les gonades femelles montrent une tendance à la différenciation dans le sens mâle. On assisterait chez les Sélaciens, comme chez les Amphibiens et chez les Amniotes à une première poussée des éléments germinaux dans la médulla, commune aux deux sexes. En ce qui concerne l'origine du tissu médullaire de la gonade, Chieffi remarque qu'il provient de la migration vers le pli génital de cellules du blastème interrénal.

Les indications données par Chieffi au sujet de la différenciation gonadique ne correspondent pas entièrement aux observations que j'ai faites moi-même sur la Roussette. Je donnerai donc une description rapide des étapes de la différenciation dans chacun des deux sexes.

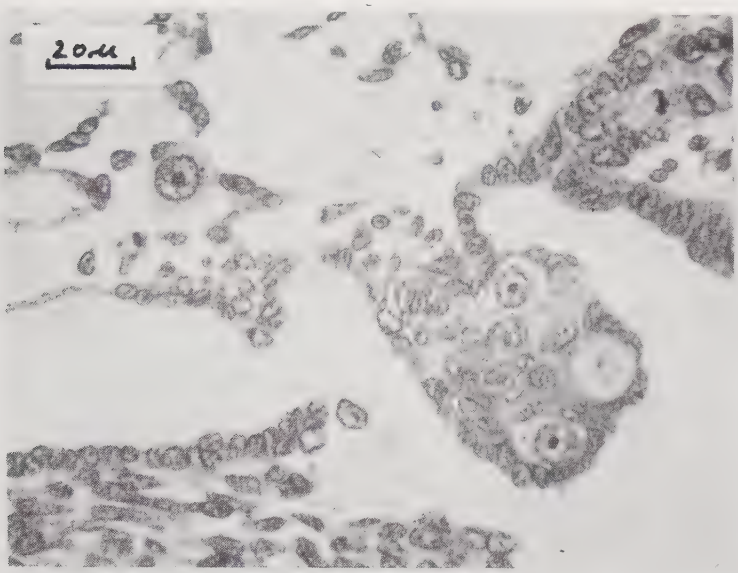
1. *Différenciation gonadique dans le sens femelle.*

J'ai indiqué plus haut quels caractères morphologiques permettent de distinguer le sexe des gonades chez les embryons mesurant 29-30 millimètres. Les ébauches femelles présentent à ce stade la structure de gonades indifférenciées, si ce n'est que l'épithélium germinatif montre déjà un développement préférentiel par rapport à celui de la médulla.

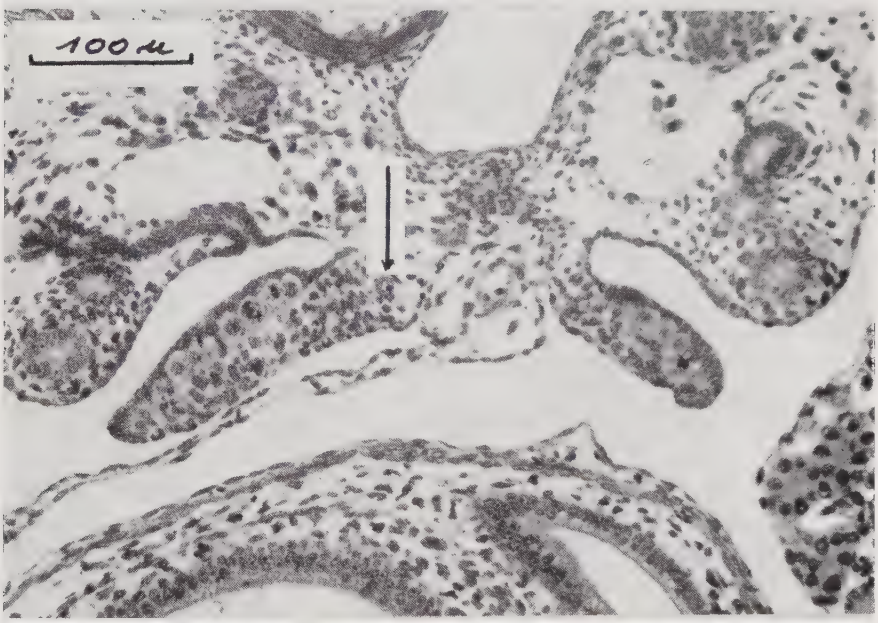
J'ai trouvé à ce stade des éléments germinaux isolés ou en groupes de 2 à 4 dans le tissu médullaire (fig. 22). Ils occupent le même emplacement que ceux qu'a décrits Chieffi (1950) chez un embryon femelle de 34 millimètres. L'auteur voit dans ces éléments — qui ont d'après lui migré du cortex dans la médulla — les témoins d'une première poussée abortive et en conclut que la gonade femelle montre d'abord une tendance à la différenciation dans le sens mâle.

Une telle interprétation me paraît devoir être écartée pour les raisons suivantes :

— Les éléments germinaux dont il est question se trouvent le plus souvent (et en particulier dans la figure donnée par Chieffi) près du hile de la gonade, à l'aplomb de la zone proximale de l'épithélium dorsal, zone qui n'est pas colonisée par des cellules germinales.



21



22

Fig. 21. — *25 millimètres.* Région gonadique.
La flèche indique une cellule germinale en dehors de l'ébauche gonadique.

Fig. 22. — *29 millimètres.* Cellule germinale (flèche) dans le tissu médullaire d'une jeune ébauche gonadique droite femelle.

— Ces mêmes éléments germinaux sont noyés dans le tissu médullaire à un stade où la migration chez le mâle est à peine ébauchée.

— On les trouve d'ailleurs dans la médulla de gonades mâles à un même stade et au même emplacement. On peut dès lors difficilement les homologuer aux cellules germinales qui amorcent leur migration : ces dernières en effet sont encore nettement rattachées à l'épithélium germinatif (fig. 4) et n'en seront isolées qu'à un stade ultérieur.

Pour ces raisons, je pense que les cellules germinales que l'on peut observer dans la médulla de la jeune gonade femelle ne proviennent pas d'une prolifération de l'épithélium germinatif. Je propose, quant à leur origine, une autre explication : on trouve fréquemment, avant même la formation de la crête génitale, des éléments germinaux situés en dehors de l'épithélium cœlomique, noyés dans du tissu conjonctif à l'emplacement du blastème interrénal (fig. 2). Ces gonocytes seront retrouvés aux stades suivants soit au même emplacement, au-dessus du mésentère dorsal (fig. 22), soit sur le trajet qui conduit à la gonade, soit enfin dans le tissu médullaire de la gonade elle-même. On sait, Chieffi l'a montré lui-même, que le tissu médullaire s'organise à partir de matériel cellulaire provenant du blastème interrénal : on a donc lieu de penser que les cellules germinales situées dans ce blastème peuvent être entraînées avec les éléments somatiques lors de la prolifération de celui-ci, et pénétrer comme eux directement dans le stroma médullaire sans passer par une localisation transitoire au niveau de l'épithélium germinatif.

La dissymétrie gonadique peut être considérée comme un caractère de la différenciation sexuelle dans le sens femelle. Il faut cependant retenir que, comme je l'ai indiqué au chapitre II, cette dissymétrie intéresse à l'origine les embryons des deux sexes ; elle ne fera que s'affirmer dans le sexe femelle au cours de la différenciation pour aboutir à la constitution d'un ovaire impair chez l'adulte tandis qu'au contraire, elle aura tendance à s'estomper avec la croissance des testicules dans le sexe mâle.

D'après les indications de Chieffi (1950), la dissymétrie n'interviendrait chez la femelle qu'à partir du stade 40-50 millimètres. La gonade gauche non seulement ne s'accroît plus, mais régresse et finit par s'accoler à la gonade droite, beaucoup plus volumineuse. Mes observations m'apportent la certitude que la croissance des gonades est dissymétrique chez la femelle et que la différence de taille entre les deux ébauches s'accentue à partir du stade de 29 millimètres correspondant aux premières manifestations de la différenciation sexuelle. De même il ne m'a pas été donné de constater une « régression » de la gonade gauche à partir du stade 50 millimètres.

Un autre indice de la différenciation gonadique se décèle au niveau des cellules germinales elles-mêmes : tandis que dans la gonade mâle, les gonocytes montrent durant toute la vie embryonnaire une activité mitotique correspondant à la phase de multiplication, on peut remarquer dans le jeune ovaire, dès le stade de 40 millimètres certaines cellules

germinales dont le noyau est en prophase méiotique. Leur nombre ira grandissant au fur et à mesure du développement pour constituer la majorité dans la gonade des embryons de 60 millimètres (fig. 23).

En ce qui concerne l'évolution du tissu médullaire j'ai observé comme Chieffi (1950) l'infiltration d'éléments cellulaires provenant du tissu lymphomyéloïde rénal, à partir du stade de 50 millimètres.

Je n'ai pas moi-même étudié l'évolution post-embryonnaire de la gonade. Semper (1875) décrit avec beaucoup de précision la formation des follicules ovariens chez *Acanthias vulgaris*, *Scymus lichia* et *Mustellus vulgaris*.

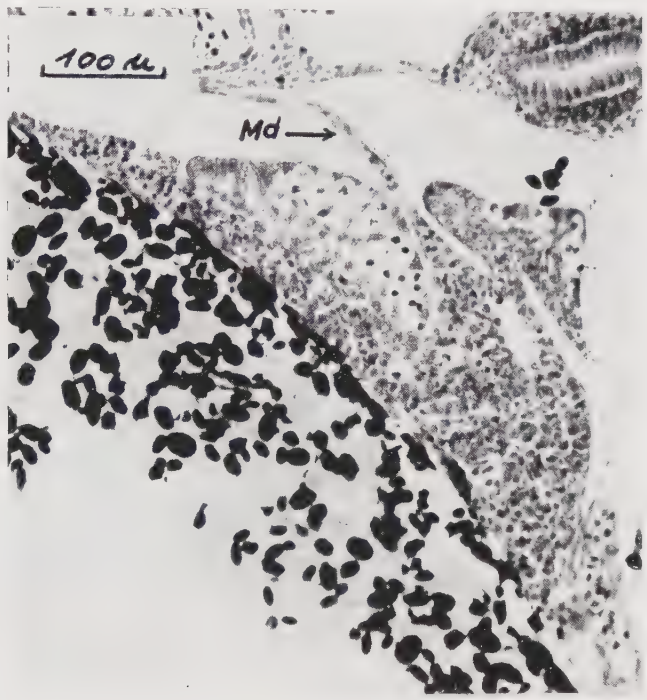


Fig. 23. — *60 millimètres.* Gonades femelles. Nombreuses cellules germinales en prophase de méiose. Envahissement de la médulla par des éléments lymphomyéloïdes.

Ceux-ci commencent à se former d'après les indications de Chieffi (1950) chez la jeune Roussette de 106 millimètres par la disposition en couronne de cellules somatiques (cœlomiques) autour des gonies isolées.

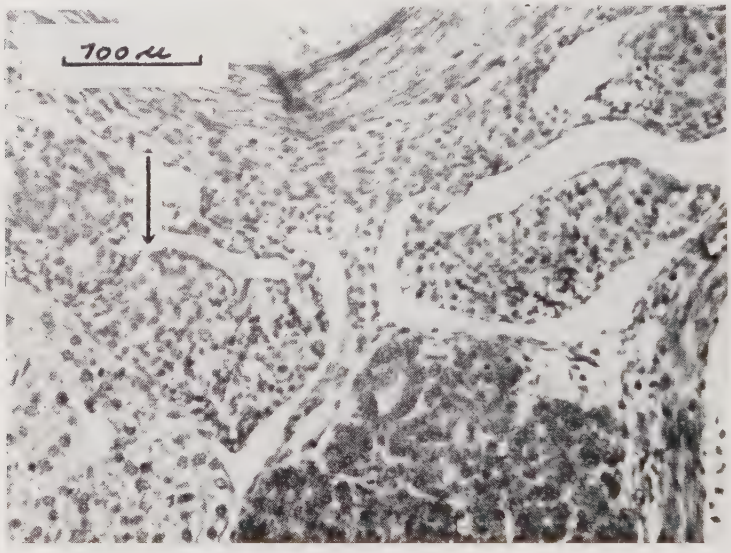
2. — *Différenciation gonadique dans le sens mâle.*

Nous avons vu précédemment comment s'amorce, au stade de 29 millimètres la migration des éléments germinaux et les raisons pour lesquelles ce stade peut être considéré comme marquant le début de la différen-

ciation de la gonade dans le sens mâle. Cette migration se poursuit jusqu'au stade 40 millimètres environ. Il subsiste alors quelques minces « îlots corticaux », au bord dorsal externe, qui ne tarderont pas à disparaître (fig. 24).

La gonade est constituée d'un stroma dense contenant de nombreux éléments germinaux disposés dans ordre défini, elle est entourée d'un mince épithélium.

Au stade de 45-50 millimètres, on assiste comme pour les gonades femelles à l'infiltration d'éléments lymphomyéloïdes (fig. 53). Ce n'est que chez la jeune Roussette de 110 millimètres, selon les indications



24

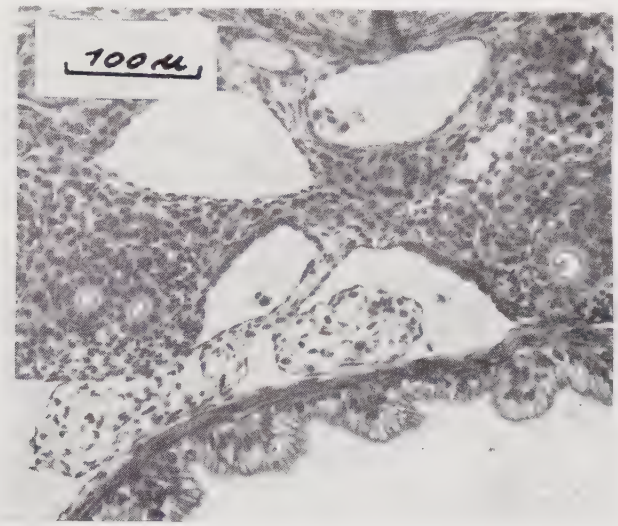
Fig. 24. — *40 millimètres*, mâle. Jeune testicule, remarquer la forme massive et les « îlots corticaux » encore visibles au bord dorsal externe (flèche).

de Chieffi (1950) que s'organisent les « sacs prégerminatifs » et les ampoules testiculaires.

La différence de taille entre les deux ébauches gonadiques que l'on peut observer chez les individus indifférenciés tend à s'estomper au fur et à mesure du développement dans le sens mâle, tout au moins en ce qui concerne la partie moyenne qui est aussi la plus développée. La dissymétrie reste marquée dans la région caudale où les deux ébauches sont soudées l'une à l'autre sur la ligne médiane. On donne à ce segment postérieur le nom d'organe épigonal. Il représente le prolongement vers l'arrière, privé d'éléments germinaux, des ébauches gonadiques (fig. 25).

En dehors des glandes germinatives, on peut observer, au cours de l'ontogenèse de la Roussette, la manifestation de caractères sexuels

primaires au niveau du rein antérieur, des conduits génitaux et des nageoires pelviennes. Une parfaite connaissance des conditions de leur différenciation est indispensable pour introduire une étude expérimentale.



25

Fig. 25. — *42 millimètres.* Niveau antérieur de l'organe épigonal chez un embryon mâle.

B. — Différenciation sexuelle du rein antérieur.

L'étude d'une dissection de Roussette mâle adulte montre que l'on peut distinguer deux parties dans les formations rénales qui s'étendent sur 29 segments troncaux tout au long de la cavité générale depuis l'œsophage jusqu'en arrière du cloaque. La partie antérieure (17 segments rénaux) est en relation avec le canal déférent (canal de Wolff) dont les nombreuses circonvolutions recouvrent presque entièrement sa face ventrale. La partie postérieure, plus réduite en longueur (11 segments rénaux) mais plus massive, n'a pas de relation avec le canal déférent. Elle déverse ses produits dans une série de conduits s'unissant en un uretère qui s'élargit en vessie urinaire avant de déboucher dans le « sac spermatique » à proximité de l'ouverture de la vésicule séminale, partie terminale renflée, du spermiducte.

La distinction de deux parties dans le rein des Élasmobranches mâles remonte aux travaux de J. Müller (1843, cité par Borcea) qui avait reconnu dans le rein antérieur une glande annexe du testicule et dans le rein postérieur l'organe excréteur proprement dit. C'est Borcea (1906) qui en a montré toute la signification par une étude d'embryologie et d'anatomie comparée portant sur plusieurs espèces de Squales et de Raies. Cet auteur distingue dans le rein antérieur une portion tout à fait craniale,

qu'il nomme épididyme, en communication avec le testicule par un ou plusieurs canaux efférents selon les espèces et une portion moyenne qui est la glande de Leydig. L'étude histologique montre que dans le rein antérieur on ne trouve pas de corpuscules de Malpighi et que les canalicules présentent deux zones (au lieu de 5 d'après la description de Haller (1902) pour les canalicules du rein urinipare) : une première très développée, glandulaire, sécrétrice ; une seconde plus courte, excrétrice, se déversant dans le canalicule collecteur. La zone sécrétrice a un diamètre 2 fois supérieur à celui de la zone moyenne des canalicules du rein postérieur. De même, la hauteur de l'épithélium sécréteur est double de celle de l'épithélium rénal correspondant (*).

Les formations rénales chez la femelle adulte présentent des dispositions notablement différentes : les organes excréteurs ne s'étendent ici que sur les 2/3 postérieurs du tronc depuis le niveau de la base des oviductes jusqu'à celui du cloaque. Les 7 segments antérieurs sont très peu développés, nettement séparés les uns des autres, en communication avec le canal de Wolff, ici rectiligne et renflé en vessie urinaire dans sa moitié postérieure. Les vessies urinaires droite et gauche s'ouvrent dans un sinus urinaire qui reçoit les canaux collecteurs des 11 segments rénaux postérieurs. Il n'y a pas lieu de distinguer dans le rein comme chez le mâle deux parties assurant des fonctions différentes. Les formations rénales sont urinipares sur toute leur étendue. Les segments rénaux antérieurs, correspondant à l'épididyme et à une partie de la glande de Leydig du mâle ont totalement disparu chez la femelle adulte.

Borcea a donné une bonne description de la transformation du rein antérieur en glande de Leydig et de l'établissement des connexions urogénitales chez le mâle d'*Acanthias*. Les références qu'il donne à propos de la Roussette sont fragmentaires. J'indiquerai donc dans l'exposé qui suit les processus observables pendant la vie embryonnaire chez Scyliorhinus. Ils conduisent à la différenciation de ce caractère sexuel somatique : la régression des segments antérieurs du rein chez la femelle et leur transformation en glande annexe du testicule chez le mâle.

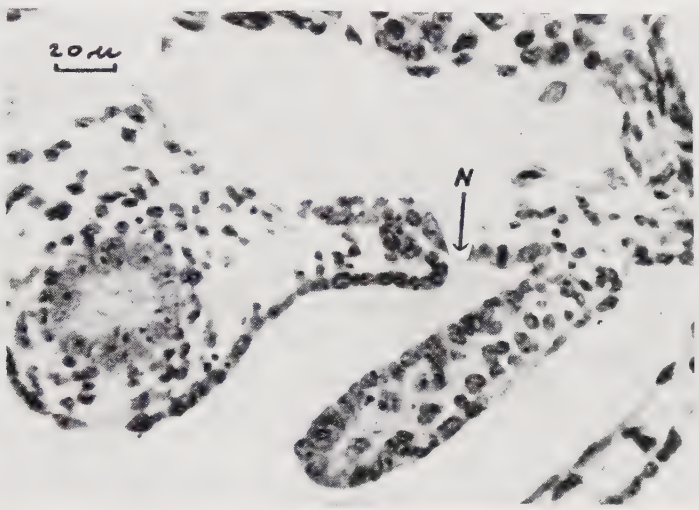
1. *Évolution femelle.*

Nous avons indiqué, dans l'étude des premières phases de l'organogenèse du mésonéphros que les canaux segmentaires antérieurs (au nombre de 5 à 7) sont incomplets chez les embryons de sexe femelle au stade 17-20 millimètres. Chez l'embryon femelle mesurant 29-30 millimètres (début de la différenciation gonadique) nous retrouvons ces ébauches sous

(*) D'après Borcea, le rein antérieur est urinipare chez les Squales à l'état jeune, alors que chez les Raies il est d'emblée privé de corpuscules de Malpighi et ses canalicules sont peu développés avant l'état de maturité sexuelle.

la forme d'autant d'encoches successives dans la voûte dorsale de la cavité générale, réparties entre l'ostium et les premières formations tubulaires du mésonéphros (fig. 26). Ces encoches représentent chacune le néphrostome et le début du canal néphrostomial des canaux segmentaires. L'ébauche de vésicules moyennes et la partie manquante — distale — du canalicule néphrostomial se sont transformées en tissu conjonctif banal par dissociation de leurs éléments épithéliaux.

Le diagramme représenté à la figure 27 fait ressortir que la première encoche néphrostomiale se situe au niveau du 3e segment faisant suite à l'ostium (ouverture péritonéale de l'uretère primaire) et non plus immédiatement en arrière de celui-ci comme c'est le cas chez l'embryon



26

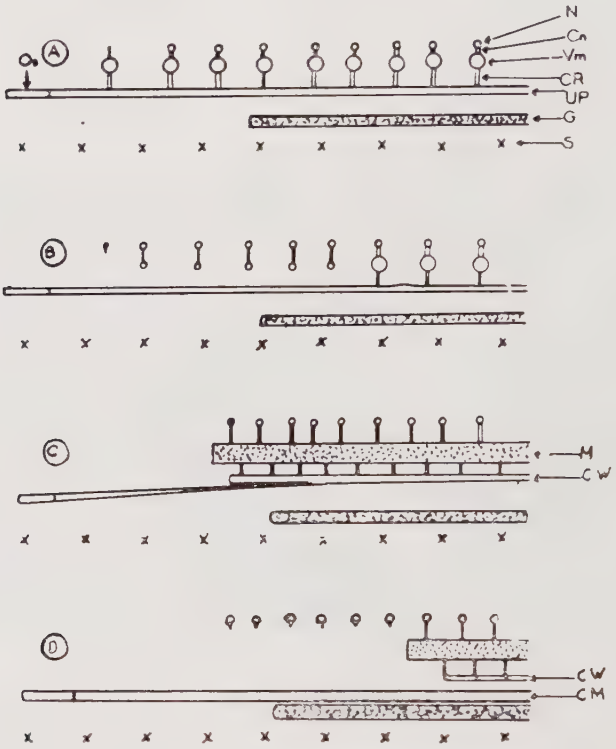
Fig. 26. — *29 millimètres.* Encoche néphrostomiale correspondant au 6e canal segmentaire chez un embryon femelle.

de 20 millimètres. Ce décalage résulte d'un étirement vers l'avant de l'uretère primaire, devenu à ce niveau canal de Müller, dont l'ostium tend à se rapprocher du plan médian pour y rencontrer son homologue controlatéral.

Les segments rénaux qui font suite à la zone dianéphrotique sont rudimentaires. L'état du développement est d'autant plus avancé que les structures sont plus postérieures : ainsi, les corpuscules de Malpighi à peine ébauchés pour les 5 premiers segments ont un diamètre de 4 µ dans la région moyenne et de 70 µ dans la région postérieure. Il est d'ailleurs à noter que les structures les plus craniales resteront rudimentaires et qu'elles sont appelées à disparaître avant la maturité de la Roussette femelle.

2. — *Évolution mâle*

On peut compter 30 canaux segmentaires chez les embryons mâles mesurant 29-30 millimètres. Il n'y a aucune trace de dégénérescence entre l'ostium et les premières formations tubulaires du mésonéphros (fig. 27). Comme pour les embryons femelles les processus du dévelop-



27

Fig. 27. — Représentation diagrammatique de la disposition des segments antérieurs du rein par rapport à la métamérie générale chez :

A : un embryon mâle de 19 millimètres ; B : un embryon femelle de 19 millimètres ; C : un embryon mâle de 29 millimètres ; C : un embryon femelle de 29 millimètres ; Cn : canalicule néphrostomiale ; CM : canal de Müller ; CR : canalicule de réunion ; CW : canal de Wolff ; G : gonade ; M : mésonéphros ; N : néphrostome ; Os : ostium ; S : métamérie du tronc (chaque croix correspond à la racine dorsale d'un nerf spinal) ; UP : uretère primaire ; Um : vésicule moyenne.

pement du rein sont beaucoup plus rapides dans la partie postérieure du tronc.

Au cours de l'évolution ultérieure les canalicules néphrostomiaux disparaîtront. C'est ainsi que chez un embryon mesurant 80 millimètres, je n'ai retrouvé qu'un vestige de l'un d'eux, correspondant au deuxième segment rénal. On peut supposer qu'à partir de cet axe épithélial s'orga-

nisera chez la jeune Roussette mâle le futur canal efférent qui fera communiquer le testicule avec le mésonéphros antérieur. Dans le sexe femelle, la gonade ne contracte à aucun moment de rapport avec le rein.

C. — Différenciation sexuelle des voies génitales.

L'établissement, à un certain stade du développement, de communications entre les glandes germinatives et la partie adjacente du système excréteur par l'intermédiaire de canalicules auxquels a été donné le nom de « tractus uro-génitaux », constitue un des faits remarquables de l'organogenèse sexuelle des Vertébrés. Le phénomène est général si l'on excepte les cas particuliers des Cyclostomes et des Poissons osseux. La nature mésonéphrotique des tractus uro-génitaux ne fait pas de doute : chez les Sélaciens, il est établi que ce sont les canalicules néphrostomiaux qui, se séparant du néphrostome oblitéré, s'engagent par prolifération dans le hile de la gonade qu'ils font ainsi communiquer avec les canalicules mésonéphrotiques. Chez les Amphibiens et chez les Amniotes, où ne se développent plus de canaux néphrostomiaux parfaits, les tractus s'établiront soit par prolifération vers la gonade de l'épithélium malpighien, soit encore par différenciation du mésenchyme mésonéphrogène.

Les tractus uro-génitaux représentent des structures mâles, ils permettent au testicule de déverser ses produits dans le conduit mésonéphrotique (qui devient de ce fait spermiducte) par l'intermédiaire des tubes urinaires de la portion « sexuelle » du rein.

Les mêmes structures se manifestent d'une manière générale dans le sexe femelle mais n'atteignent qu'un développement limité. Elles peuvent subsister toute la vie durant, sous la forme d'organes vestigiaux rudimentaires : ce sont les poches ovariques de Kuschakewitch chez les Amphibiens, le « Rete ovarii » (homologue du « réseau de Haller » du testicule chez les Amniotes). Le canal de Wolff régresse ou sert de conduit urinaire.

Le conduit vecteur des produits génitaux femelles est constitué par un canal dont on soupçonne les relations avec le pronéphros à travers toute la série des Vertébrés. Chez les Sélaciens, la nature pronéphrotique de ce « Canal de Müller » est évidente : son ouverture péritonéale (ostium) et son tronçon proximal représentent respectivement un ou plusieurs néphrostomes pronéphrotiques et le segment correspondant de l'uretère primaire ; ses tronçons moyen et postérieur dérivent de la paroi ventrale de l'uretère primaire.

Chez les Amphibiens les processus de l'histogenèse müllérienne diffèrent beaucoup d'un groupe à l'autre. De l'étude précise que Gallien (1944) a faite sur une race indifférenciée de *Rana temporia*, il ressort que l'ostium müllérien se réalise à partir d'un repli de l'épithélium cœlomique au niveau de la région moyenne du pronéphros à un stade où celui-ci est en involution. L'auteur note qu'il n'y a aucune relation entre les néphrostomes du pronéphros et cette invagination. Une récente observation de Cam-

BAR et DECHAMBRE (1958) fait ressortir que l'ostium müllérien s'édifie sans participation du matériel cellulaire des néphrostomes pronéphrotiques chez *Rana dalmatina*. Pourtant, même chez les plus évolués des Amphibiens, il est clair que le canal de Müller s'édifie, au moins sur une partie de son trajet, à partir de matériel cellulaire wolffien. Chez les Amniotes enfin, où des études restent à faire, on peut se rendre compte que l'ostium müllérien apparaît comme chez les Amphibiens dans la « région » du pronéphros involué, l'ébauche du canal s'étendant par la suite jusqu'au cloaque par bourgeonnement (*).

Structures femelles, les canaux de Müller apparaissent également dans le sexe mâle. D'une manière générale le début du développement se situe à la même époque dans les deux sexes et l'ébauche atteint son complet développement, de l'ostium jusqu'au cloaque. C'est le cas pour les Amphibiens et pour les Amniotes (**). Pour ce qui est des Sélaciens on sait que le canal de Müller ne se développe qu'incomplètement chez le mâle.

Après s'être formés, les canaux de Müller régressent chez le mâle, pouvant laisser des vestiges, correspondant en général à leurs extrémités craniales et caudales. Elles sont connues chez l'Homme sous le nom d' « hydratile sessile » et d' « utérus masculin » (utricule prostatique). Dans une série de travaux, LUTZ-OSTERTAG (1954) et SCHEIB-PFLEGER (1956) ont mis en évidence les processus et le déterminisme de cette régression chez le Poulet mâle et le Canard. La disparition caudo-craniale de l'épithélium du canal se fait chez le Poulet mâle par une nécrose brutale intervenant au 9e jour de l'incubation. La maquette conjonctive entourant l'épithélium disparaîtra à son tour, au cours des 4 jours suivants.

Revenons maintenant au cas des Sélaciens et plus particulièrement à celui de la Roussette qui nous occupe.

Pour ce qui est des connexions uro-génitales, les particularités qui ressortent de l'étude faite plus haut sont les suivantes :

— Il ne se forme qu'un seul canalicule efférent qui représente le second canalicule néphrostomial. Il semble se désorganiser (disparition de la lumière) au cours de l'étirement qui le fait entrer en contact avec le hile de l'extrémité antérieure du testicule. Les connexions entre ce canal et la glande germinative (union avec les ampoules séminifères) s'établissent tardivement au cours de la vie post-embryonnaire.

— Les canalicules néphrostomiaux correspondant à la région antérieure du mésonéphros dégénérant de façon très précoce, il ne s'établit pas de connexions uro-génitales dans le sexe femelle (***).

(*) GRUENWALD (1941), par des colorations particulières (Azan-Imprégnations argentiques Gomori) a pu montrer que la plus grande partie du CM est en l'absence du second ; il se développe à l'intérieur de sa membrane basale.

(**) LEROY (1956) a remarqué que chez le Caméléon *(Ch. bitæniatus)* l'ébauche müllérienne se développe plus lentement et n'atteint pas le cloaque chez le mâle. Observation analogue de DUFAURE (1961) à propos d'un autre Reptile, le Lézard vivipare *(Zootoca vivipara)*.

(***) Elles ont été décrites pour d'autres espèces de Sélaciens notamment chez Torpedo (CHIEFFI, 1949).

En ce qui concerne le développement du canal de Müller les observations de Semper (1875) bien que fort anciennes me semblent les plus valables. L'uretère primaire, par une division longitudinale s'étendant de l'avant vers l'arrière, donne un canal ventral (canal de Müller) et un canal dorsal (canal de Leydig). Cette division ne commence qu'à une certaine distance, en arrière de l'ouverture péritonéale de l'uretère primaire. Le tronçon resté indivis est en continuité avec le canal de Müller et en représente l'ostium et une partie de la trompe. Dans la région postérieure il n'y a pas à proprement parler de division, le canal de Müller se forme comme un cordon plein à partir de cellules provenant de la paroi ventrale épaissie de l'uretère primaire.

Semper a surtout étudié le phénomène chez *Acanthias vulgaris* mais il disposait également d'embryons de *Mustellus*, de *Scyliorhinus* (1 seul exemplaire mâle) et de *Scymnus lichia*. A propos du développement müllérien chez le mâle, il arrive à la conclusion que les différences sont importantes d'une espèce à l'autre mais que de toute manière, jamais chez le mâle, le canal de Müller n'atteint un développement complet. Chez *Acanthias* au stade 30 millimètres, le canal de Müller est développé jusqu'au cloaque chez la femelle tandis que chez le mâle on n'en trouve que des rudiments irréguliers sous forme de cordons cellulaires rarement creusés d'une lumière. Ces traces limitées à la région antérieure n'atteignent jamais le troisième tiers de la cavité générale. La division de l'uretère primaire n'étant pas observable dans la région postérieure durant la vie embryonnaire chez le mâle, l' « utérus masculin » ne mérite ce nom, d'après Semper, que s'il se forme de la même manière que l'utérus chez la femelle, c'est-à-dire à partir de la paroi ventrale du canal de Wolff.

Semper ne décrit pas de phénomènes de régression au niveau du canal de Müller chez le mâle.

Borcea (1906) qui s'est surtout attaché à l'organogenèse du rein n'effleure le problème du développement du canal de Müller chez le mâle que pour en dire des choses curieuses : à propos d'un embryon mâle de Roussette mesurant 3-5 millimètres il indique que « Les orifices péritonéaux des deux uretères sont réunis de sorte que ceux-ci débutent par un seul orifice dans la cavité générale » (p. 304). Nous verrons que l'orifice dont il parle est celui des canaux de Müller qui sont eux-mêmes à ce stade sans rapport avec les canaux de Wolff chez le mâle. Plus loin, p. 305, à propos du même embryon les « uretères primaires » ne présentent aucune trace de division dans la partie supérieure ; il s'agit donc sûrement d'un embryon mâle. Est-ce à dire que le canal de Müller ne s'ébauche même pas dans le développement des embryons mâles de Roussette ? Pourtant Borcea décrit un « utérus masculin » chez l'embryon mâle de 6 centimètres (p. 309).

Devant ces imprécisions, j'ai décidé de reprendre en détail l'étude du développement des canaux de Müller dans les deux sexes chez Scyliorhinus.

— Les processus de formation des canaux de Müller sont-ils, au moins au début, les mêmes dans les deux sexes ?

— Quelle est la limite d'extension des canaux de Müller chez le mâle ?

— Observe-t-on des phénomènes de régression müllérienne chez le mâle ? Quelles en sont dans ce cas les modalités ?

— L' « utérus masculin », dans lequel débouchent le spermiducte, la vessie urinaire et les uretères correspondant aux segments les plus postérieurs du rein, doit-il être considéré comme étant de nature müllérienne ?

Ce sont là des questions que je me suis posées et auxquelles je propose une réponse dans l'exposé qui suit.

1. *Évolution femelle.*

Au stade de 25-27 millimètres, la paroi ventrale de l'uretère primaire présente un net épaississement qui, se manifestant d'abord au niveau des segments mésonéphrotiques antérieurs, s'étend progressivement vers l'arrière. Une lumière, en continuité avec celle de l'uretère primaire apparaîtra bientôt dans cet épaississement. Les deux canaux superposés que l'on devine alors en coupe transversale s'individualiseront complètement par pincement de l'épithélium au niveau de l'isthme par lequel communiquent les deux lumières (fig. 28, 29 et 30). Ces processus suivent un développement antéro-postérieur. Le canal dorsal ainsi formé (canal de Wolff) reçoit les canalicules rénaux. Il sera le conduit évacuateur de l'urine. Le canal ventral (canal de Müller) plus externe, est en continuité vers l'avant avec la portion restée indivise de l'uretère primaire. Il constituera le conduit génital femelle.

Appliqués au début l'un contre l'autre, les deux canaux sont, à l'origine, de même épaisseur. Ils ne tarderont pas à se séparer tandis que le canal de Müller, dans la région antérieure montrera un diamètre nettement plus important que celui du canal de Wolff.

La division est complète, réalisée jusqu'au niveau cloacal, au stade 36-37 millimètres.

Les dispositions des voies génitales et urinaires chez l'embryon femelle de 60 millimètres sont les suivantes : les canaux de Müller suivent un trajet rectiligne et s'étendent sur toute la longueur du tronc. A l'extrémité antérieure les deux canaux se rapprochent l'un de l'autre sur la ligne médiane, leurs orifices sont confondus en un ostium commun médian à la face ventrale de l'œsophage. Le diamètre est plus important au niveau du tiers antérieur du tronc correspondant à l'emplacement des futures glandes nidamentaires (fig. 40 et 42). Les sections transversales montrent que les canaux sont déprimés dorso-ventralement et ceci plus particulièrement dans les zones antérieure et moyenne. L'épithélium est fait d'une seule assise de cellules cylindriques dont la hauteur varie suivant les niveaux.

Les canaux de Müller ne communiquent pas avec le cloaque. Leur extrémité distale est appliquée à sa face dorsale, de part et d'autre et légère-

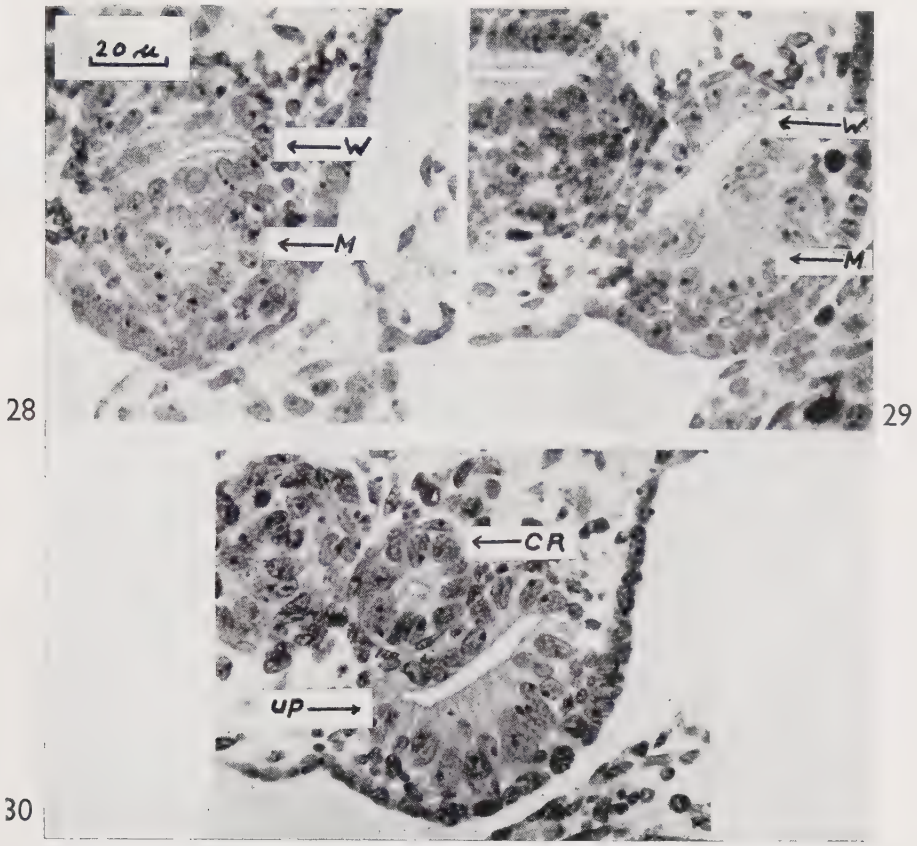


Fig. 28, 29 et 30. — *29 millimètres.* Trois coupes à des niveaux de plus en plus postérieurs illustrant la division de l'uretère primaire dans la région moyenne du tronc chez l'embryon femelle.

ment en avant du sinus urinaire résultant de la fusion des canaux de Wolff. De nombreuses taches de pycnose s'observent dans la lame épithéliale qui sépare la lumière du cloaque de celle des canaux de Müller.

L'étendue du canal de Wolff correspond à celle du mésonéphros. Sa section est régulièrement circulaire, de faible diamètre (fig. 40). Il reçoit à sa face dorsale les canaux collecteurs drainant les segments antérieurs du rein. Dans la partie postérieure, les canaux collecteurs se sont allongés vers l'arrière en s'anastomosant pour former un canal urinaire commun selon un processus déjà ébauché au stade néphridioïde. Cet uretère s'ouvre à la face dorsale du canal de Wolff au niveau du cloaque. Les canalicules collecteurs des 4 segments les plus caudaux ne participent pas à cet uretère et débouchent au même niveau. A leur extrémité distale les deux canaux de Wolff fusionnent en un sinus urinaire très court qui, pénétrant le cloaque par sa face dorsale, y fait une légère saillie, ébauche de la papille urinaire.

2. *Évolution mâle.*

Dès les premiers stades, les processus conduisant à la division de l'uretère primaire chez le mâle diffèrent de ceux que je viens de décrire pour la femelle : l'épaississement n'intéresse ici qu'une portion réduite de la paroi latéro-ventrale de l'uretère primaire. Les deux canaux qui se forment sont d'emblée de section différente, celle du canal ventral étant nettement plus réduite (fig. 31 et 32).

D'une manière générale, le processus de division qui s'étend comme chez la femelle de l'avant vers l'arrière se trouve bloqué entre le 3e et le 5e segment rénal. On voit alors à ce niveau, chez les embryons mâles de 29-30 millimètres, le canal de Müller communiquant avec le canal de Wolff. En arrière, on ne distingue plus d'épaississement ventral de l'uretère primaire ; celui-ci constitue uniquement le canal de Wolff, futur spermiducte.

Dans de nombreux cas cependant, la division de l'uretère primaire se fait selon les processus décrits pour la femelle (participation de toute la paroi ventrale à l'édification du canal de Müller) ; elle s'étend alors sur une étendue plus grande (chez un embryon de 33 millimètres, nous avons trouvé un canal de Müller individualisé jusqu'au niveau du 12e segment rénal ; en arrière, des amas cordonnaires isolés, alternant avec un épaississement de la paroi ventrale de l'uretère primaire prolongeaient le conduit müllérien jusqu'au 20e segment rénal (*).

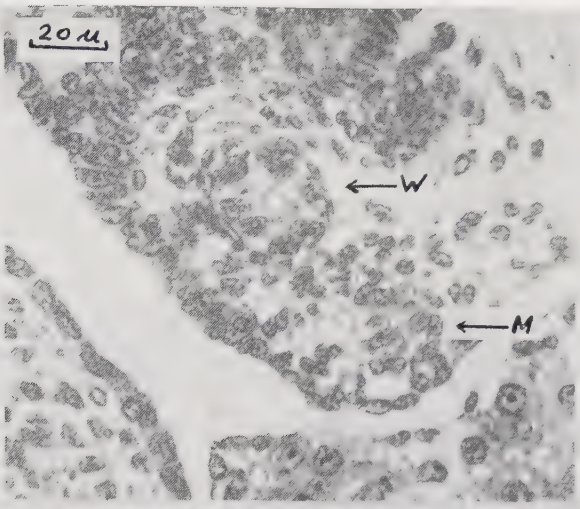
En règle générale, les phénomènes de régression se manifestent précocement (au stade de 30 millimètres) affectant d'abord l'extrémité distale de l'ébauche. On remarque en premier lieu, de place en place dans l'épithélium müllérien, des plages pycnotiques qui, devenant de plus en plus nombreuses, aboutissent à sa destruction complète (fig. 34 et 35). Cette nécrose se fait en sens caudo-cranial, se poursuit jusqu'au stade de 35 millimètres environ, et n'épargne qu'un très court segment de l'extrémité ostiale du canal. On remarquera que la nécrose n'intéresse pas seulement

(*) Au début de mes recherches, ne disposant que d'un petit nombre d'échantillons, j'avais acquis la conviction que c'était là la règle générale du développement müllérien chez le mâle. C'est une erreur que je tiens à relever : chez le plus grand nombre d'individus, le canal de Müller ne se développe pas au-delà du 5e segment rénal.

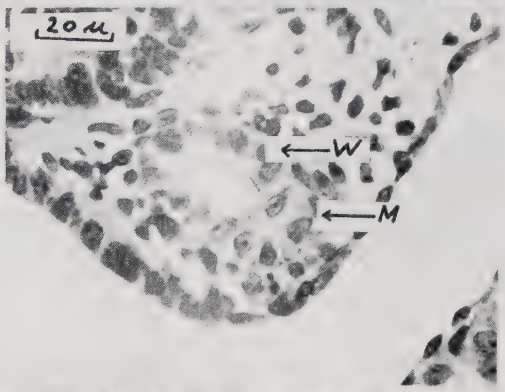
Fig. 31. — *29 millimètres.* Canal de Müller au niveau du 2e segment mésonéphrotique chez un embryon mâle.

Fig. 32. — *29 millimètres.* Limite de division de l'uretère primaire, au niveau du 5e segment mésonéphrotique chez un embryon mâle.

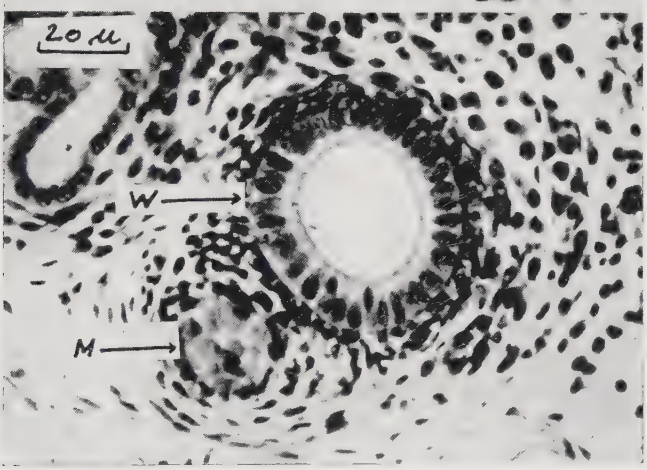
Fig. 33. — *55 millimètres*, mâle. Cordon épithélial müllérien entre le canal de Wolff et l'épithélium cœlomique dans la partie moyenne du tronc.



31

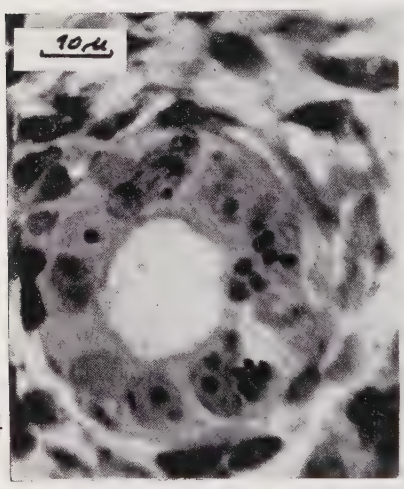


32



33

le segment müllérien provenant de la division de l'uretère primaire mais aussi, plus en avant, une partie de celui-ci restée indivise. Chez certains individus où la division de l'uretère primaire s'est faite sur une étendue anormalement grande, le nécrose n'est pas intégrale et de courts segments subsistent sous la forme d'amas épithéliaux à la face ventrale du canal de Wolff. Ainsi, la figure 33 représente un cordon de cellules épithéliales entouré de gaines conjonctives qui a été observé chez un embryon mâle mesurant 55 millimètres, à égale distance de l'extrémité antérieure du mésonéphros et du cloaque.



34

35

Fig. 34. — *29 millimètres*, mâle.
Taches de pycnose dans l'épithélium müllérien.

Fig. 35. — *30 millimètres*, mâle. Segment müllérien en dégénérescence.

Voici quelle est la disposition des différents conduits chez l'embryon mâle de 60 millimètres :

— Les canaux de Müller ne sont plus représentés que par un très court tronçon de leur extrémité antérieure. Comme chez la femelle, les ouvertures péritonéales ont fusionné en un ostium médian, à la face ventrale de l'œsophage. Ce vestige müllérien subsistera chez l'adulte (ostium et trompe du mâle).

— Les canaux de Wolff montrent avec le mésonéphros les mêmes relations que dans le sexe femelle. Le sinus résultant de leur fusion distale est ici appelé « sinus uro-génital » en raison du fait que les canaux de Wolff deviennent chez l'adulte les conduits évacuateurs des produits génitaux. On ne trouve pas encore à ce stade d' « utérus masculin ». Ceux-ci se formeront plus tard par prolifération de la lumière du sinus dans l'amas cellulaire dense qu'on peut observer à la face ventrale du segment distal du canal de Wolff (fig. 59). Ces tubes aveugles (improprement appelés « utérus

masculin ») ne sauraient donc en aucune manière être considérés comme des vestiges mülleriens. Si on les compare à la partie distale des canaux de Müller chez la femelle, on ne manquera pas de noter qu'ils se forment de manière différente, en sens inverse et à un stade beaucoup plus tardif, et qu'ils débouchent dans le sinus uro-génital au lieu de s'ouvrir directement dans le cloaque.

D. — Développement des organes copulateurs.

Les premiers signes de la différenciation des organes copulateurs (myxoptérygies) apparaissent chez l'embryon mâle mesurant 28-30 millimètres. On voit alors se dessiner un lobe au bord postérieur externe de chaque nageoire pelvienne. Ceci correspond à une différence déjà sensible des pièces squelettiques de la nageoire. Les figures 36 et 39 montrent les dispositions de ces pièces, telles qu'elles apparaissent après coloration et éclaircissement des nageoires pelviennes. On remarque déjà chez l'embryon de 30 millimètres que la partie distale du basiptérygium, plus massive chez le mâle, s'incurve légèrement vers le plan médian, alors qu'elle est rectiligne chez la femelle. Une pièce radiale (ptérygophore) s'est différenciée en regard de l'extrémité postérieure du basiptérygium chez le mâle : il s'agit du futur myxoptérygium. On voit donc que la différenciation des organes copulateurs chez la Roussette est précoce puisqu'elle est contemporaine de celle des gonades et des canaux de Müller.

IV. — TABLEAU RÉCAPITULATIF

DES PRINCIPAUX ÉVÉNEMENTS DE L'ORGANOGENÈSE URO-GÉNITALE CHEZ L'EMBRYON DE ROUSSETTE (MÉDITERRANÉE)

Taille en mm.	Pronéphros	Mésonéphros	Uretère primaire	Nageoires pelviennes	Gonades	CM
3-3,5	Apparition du bourgeon pronéphrotique.					
5,5-6	Développement maximum.		3 néphrostomes à droite. 2 néphrostomes à gauche.			
6		Tubes cœlomiques.				
12			1 seule ouverture péritonéale pour chaque uretère primaire.			

IV. — TABLEAU RÉCAPITULATIF *(suite)*

Taille en mm.	Pronéphros	Mésonéphros	Uretère primaire	Nageoires pelviennes	Gonades	CM
13-14					Crêtes génitales.	
17-20		Stade néphridioïde (canaux segmentaires). Différenciation sexuelle du rein antérieur.				
25-27			Début de la division longitudinale.			
29-30			Arrêt de la division longitudinale chez le mâle.	Lobes (myxoptérygiaux) chez le mâle.	Début de la migration des éléments germinaux dans les gonades mâles. Début de l'évolution dissymétrique des gonades femelles.	Régression chez le mâle.
36-37						Complet développement chez la femelle.
40					Certains éléments germinaux des ovaires en prophase de méiose.	
40-45					Disparition des îlots corticaux des gonades mâles.	
50-55					Envahissement de la médulla par des éléments lymphomyéloïdes.	

V. — CONCLUSIONS : CARACTÈRES PARTICULIERS DE L'ORGANOGENÈSE URO-GÉNITALE CHEZ LA PETITE ROUSSETTE

1. — Différenciation des segments antérieurs du rein.

L'originalité de la différenciation sexuelle de la petite Roussette me paraît résider, en premier lieu, dans l'antériorité de la différenciation de certains caractères sexuels somatiques par rapport à celle des glandes génitales. Les premiers signes de l'évolution divergente des segments les

plus craniaux du mésonéphros sont décelables chez l'embryon mesurant environ 18 millimètres alors que les ébauches gonadiques sont encore très rudimentaires, leur différenciation morphologique n'intervenant pas avant le stade de 29-30 millimètres, soit près d'un mois plus tard dans les conditions normales de développement. La même antériorité, bien que sensiblement moins importante, concerne le développement, inégal dans les deux sexes, des canaux de Müller.

En somme, il faut bien constater que chez la petite Roussette, la différenciation sexuelle des territoires somatiques précède, de très loin pour l'un d'entre eux, celle des ébauches gonadiques. Aucune observation analogue n'a été faite à ma connaissance chez aucun animal appartenant à une autre classe de Vertébrés. Aussi bien chez les Batraciens que chez les Reptiles, les Oiseaux et les Mammifères, les espèces dont l'organogenèse uro-génitale a été étudiée nous montrent que la différenciation des caractères sexuels somatiques (ou caractères sexuels primaires), s'effectue postérieurement à celle des gonades. La représentation que l'on se fait de la différenciation du sexe chez les Vertébrés est en partie liée à cette constatation fondamentale. Appuyée par des résultats d'études expérimentales qui sont évoqués plus loin, elle a conduit à admettre que la différenciation des caractères sexuels primaires est placée sous le contrôle hormonal des gonades embryonnaires.

Peut-on concevoir que pour un Sélacien, à l'encontre de ce que l'on pense être la règle pour l'ensemble des Vertébrés, la différenciation des caractères sexuels somatiques soit indépendante des hormones des glandes génitales puisqu'elle se place antérieurement à la différenciation morphologique de ces organes ? En d'autres termes, les caractères sexuels primaires de la Roussette seraient-ils autosexuels (ou somatosexuels), leur différenciation étant liée directement à la constitution génétique des cellules qui les composent ? Ou doit-on admettre que, morphologiquement indifférenciées, les gonades soient néanmoins fonctionnelles du point de vue endocrinien ? On peut à ce propos évoquer les expériences par lesquelles Weniger (1961) a pu mettre en évidence une activité hormonale spécifique de la part d'ovaires ou de testicules embryonnaires de 5 jours (morphologiquement indifférenciés) chez le Poulet. Il reste pourtant vrai que dans l'organogenèse normale du Poulet, la première différenciation somatique (régression des canaux de Müller chez le mâle), se fait à un stade où testicules et ovaires sont aisément reconnaissables comme tels par leur structure, ce qui n'est pas le cas, et de loin, des gonades de la Roussette au moment où les segments antérieurs du mésonéphros sont bloqués dans leur développement chez les embryons femelles.

La deuxième partie du présent travail, traitant de la sensibilité des territoires somatiques sexuels aux hormones sexuelles de synthèse, apportera certains éléments de réponse à cette question importante du déterminisme de leur différenciation.

2. Différenciation gonadique.

Au stade où elle est encore morphologiquement indifférenciée, la gonade de l'embryon de Roussette est formée de deux constituants somatiques, le cortex et la médulla, dont les potentialités sont respectivement femelles et mâles. On connaît les mêmes dispositions, avec les mêmes valeurs prospectives dans la gonade indifférenciée des Amphibiens et des Amniotes.

La différenciation gonadique dans le sens mâle se fait par la migration dans le tissu médullaire des éléments germinaux primitivement logés dans l'épithélium germinatif. Cette migration se fait en un temps, elle entraîne la totalité des éléments germinaux. Ceux-ci se trouvent d'abord isolés dans la médulla, éparpillés dans un massif de petites cellules épithéliales ; leur disposition en cordons sexuels et en ampoules germinales ne se fait que tardivement. Il n'y a pas de migration médullaire et à plus forte raison pas de formation de « tubes de première poussée » chez la femelle. Toutes les cellules germinales restent dans le cortex où bientôt un grand nombre d'entre elles subissent les débuts de la prophase méiotique. Il résulte de ces observations que l'orientation sexuelle morphologique de la gonade se place à un stade particulièrement précoce, marqué par le début de la migration des éléments germinaux dans l'ébauche mâle.

La dissymétrie gonadique qui caractérise l'évolution femelle chez la Roussette se réalise de telle façon qu'on ne peut à mon sens la comparer à la dissymétrie connue chez l'Oiseau. La gonade droite de la Poule est en effet un organe vestigial dont la différenciation s'est arrêtée après la formation des tubes de première poussée. Sauf cas exceptionnels, anormaux, l'épithélium germinatif de cette gonade droite s'aplatit au 6^{e} jour de l'incubation chez l'embryon de Poulet et ne forme donc pas de tubes pflügériens (ou « de deuxième poussée »). Le même début d'évolution dissymétrique de l'épithélium germinatif s'observe d'ailleurs au niveau des ébauches testiculaires.

Chez la Roussette femelle, l'ovaire est également impair, il correspond à l'ébauche droite. Il ne reste ici aucun vestige de la gonade gauche dont le développement a été retardé chez l'embryon dès le début de la différenciation morphologique. A l'encontre de ce qui se passe chez le Poulet, il n'existe primitivement chez l'embryon de Roussette, aucune différence de structure entre les deux organes.

3. Connexions uro-génitales.

Pendant la vie embryonnaire, aucun rapport ne s'établit entre gonades et rein antérieur. Mes observations me donnent à penser que la communication s'établira plus tard, chez la jeune Roussette mâle par la prolifération simultanée de structures épithéliales issues du testicule et d'un canalicule néphrostomial, vraisemblablement le second. De telles con-

nexions ne s'établissent que chez les individus mâles. A aucun moment, la gonade ne contracte de rapport avec le mésonéphros dans le sexe femelle.

4. Canaux de Müller.

Le fait le plus remarquable, en ce qui concerne l'organogenèse des canaux de Müller, est sans doute l'agénésie plus ou moins étendue de ces conduits chez les embryons de sexe mâle. La règle générale fait que chez les Vertébrés les canaux de Müller se développent complètement, depuis l'ostium jusqu'au cloaque pendant la phase d'indifférence sexuelle et quel que soit le sexe génétique de l'individu. La différenciation sexuelle amènera la destruction totale ou partielle de ces organes arrivés à complet développement chez les embryons de sexe mâle. Pourtant des cas ont été décrits où, comme chez la Roussette, les phénomènes de destruction interviennent avant que les conduits mülleriens n'aient atteint le cloaque : il s'agit de deux Reptiles, le Caméléon (Leroy, 1956) et le Lézard vivipare (Dufaure, 1961).

Notons enfin que certaines images histologiques me donnent à penser que la régression du rudiment müllérien formé chez l'embryon de Roussette mâle se fait selon des processus comparables à ce qui a été décrit chez le Poulet (Wolff et Lutz-Ostertag, 1951).

Tels sont les caractères de l'organogenèse chez la petite Roussette qui peuvent paraître particuliers si l'on se rapporte au schéma établi pour les Batraciens et la plupart des Amniotes. Il est vrai pourtant, ainsi que l'avaient déjà remarqué les embryologistes de la fin du siècle dernier, que les Élasmobranches, dont la Roussette est un représentant, se rapprochent, quant à la différenciation sexuelle, bien davantage des Amniotes que des Osteichthyens.

DEUXIÈME PARTIE

L'ACTION DES HORMONES SEXUELLES DE SYNTHÈSE SUR L'ORGANOGENÈSE URO-GÉNITALE

I. — INTRODUCTION. HISTORIQUE

Une importante série de travaux réalisés principalement chez les Batraciens, les Oiseaux et les Mammifères (parabiose, greffes de gonades, castrations embryonnaires) ajoutés à cette véritable « expérience naturelle » qu'est le Free-Martin des Bovidæ, ont montré que la différenciation sexuelle se réalise sous le contrôle de substances hormonales élaborées par les gonades embryonnaires. Faute d'avoir pu jusqu'ici découvrir la constitution chimique de ces substances, de nombreux auteurs ont comparé leur activité dans les processus de la différenciation du sexe à celle que manifestent, administrées à l'embryon, les hormones sexuelles de l'adulte dont la nature est parfaitement connue et que l'on sait préparer par synthèse. Certains expérimentateurs (Ét. Wolff, V. Dantschakoff, P. Angel) ont acquis de cette comparaison la conviction que les hormones embryonnaires sont, sinon identiques, du moins de même nature que les hormones de l'adulte. Pour d'autres au contraire (en particulier E. Witschi), s'il est vrai que dans certains cas les hormones sexuelles miment l'action des inducteurs embryonnaires, ces deux substances n'ont entre elles aucune parenté chimique. Il s'agit là d'une discussion déjà ancienne qui remonte aux premiers résultats acquis à la suite d'injections d'hormones stéroïdes : seule l'identification chimique des hormones embryonnaires pourra trancher le débat d'une manière définitive.

Il reste vrai pourtant que les résultats obtenus chez les Vertébrés à la suite d'injections d'hormones stéroïdes à l'embryon ont contribué dans une très large mesure à élargir nos connaissances sur les mécanismes de la différenciation du sexe. Je me propose d'en indiquer brièvement les plus caractéristiques, qui ont été acquis chez les Amphibiens, les Oiseaux et les Mammifères : il sera intéressant de pouvoir les comparer à ceux que j'ai enregistrés par la même méthode chez un représentant de la classe des Chondrichthyens.

Amphibiens. — L'inversion totale des glandes génitales dans le sens mâle-femelle ou femelle-mâle a été obtenue chez les Anoures et Urodèles, par administration précoce d'androgènes et d'œstrogènes (Gallien, 1937, 1944, 1950 ; Burn, 1938). Les territoires somatiques sont eux aussi sensibles à l'action de ces hormones : d'une manière générale ils sont orientés dans le sens de la féminisation après traitement gynogène, dans celui de la masculinisation après traitement androgène. Gallien (1959) a pourtant montré les limites d'interprétation qu'imposent les résultats acquis par cette méthode dans l'ensemble du groupe : la nécessité d'emploi de doses élevées, extraphysiologiques, d'hormones gynogènes pour obtenir la féminisation des Urodèles, les effets nuls ou partiels sur un grand nombre de types, la limitation dans le temps de certains effets dits « orthodoxes » rendent difficile, d'après cet auteur, l'assimilation des inducteurs sexuels aux hormones stéroïdes.

Oiseaux-Reptiles. — Les premières études sur l'intersexualité hormonale ont été réalisées chez le Poulet en 1935, simultanément, par trois groupes d'auteurs : Wolff et Ginglinger en France, Dantschakoff en Lithuanie, Willier, Gallacher et Koch aux U. S. A. Leurs expériences ont eu un profond retentissement et ont été bientôt étendues à d'autres classes de Vertébrés.

Une hormone sexuelle, administrée à l'embryon mâle avant la différenciation du sexe transforme la gonade en ovotestis et s'oppose à la régression des canaux de Müller. Wolff et Ginglinger montraient du même coup que l'importance de ces transformations est proportionnelle à la dose d'hormone injectée : les mâles les plus féminisés présentent un véritable ovaire et un tractus müllérien de type femelle. Il a été démontré par la suite (Wolff, 1936) que si le maintien des canaux de Müller est définitif, il n'en est pas de même de la transformation de la gonade qui, après l'éclosion, retourne à une structure testiculaire par la prolifération de l'épithélium germinatif et la dégénérescence du cortex ovarien, ceci même dans le cas où le traitement œstrogène est régulièrement entretenu. On voit donc que ces expériences ont donné des résultats très positifs mais n'ont jamais permis d'obtenir, comme ce fut le cas chez certains Amphibiens, des femelles à partir de mâles génétiques. Il était donc plus conforme aux faits de parler d'intersexualité, comme l'ont fait Wolff et Ginglinger et Willier et coll., que d'inversion sexuelle (V. Dantschakoff).

Moins nette et plus délicate à interpréter s'est révélée l'action morphogène des hormones mâles : celles que l'on peut considérer comme les plus « masculinisantes », testostérone et ses esters, androstane-diol, retardent la régression des tubes testiculaires de la médulla ovarienne, entraînent la régression des canaux de Müller (Wolff et coll., 1948) ou en provoquent l'agénésie (Stoll, 1948, 1951). D'autres hormones, appartenant également au groupe des androgènes montrent une action « paradoxale » transfor-

mant la gonade gauche des mâles en ovotestis comme le font les œstrogènes.

Des expériences de greffes de gonades embryonnaires et de parabioses d'organes en culture *in vitro* ont conduit Ét. Wolff à mettre l'accent sur la similitude entre les effets des hormones cristallisées et ceux des substances élaborées par les gonades embryonnaires.

Maraud et Stoll (1955, 1958, 1960 *a* et *b*), Maraud (1961), ont récemment étudié la transformation du mésonéphros en épididyme chez le Poussin au cours des deux premiers mois suivant l'éclosion : ils ont montré le rôle inducteur du testicule dans ce phénomène ; l'action vicariante de la testostérone chez les sujets castrés les a conduits à assimiler cette hormone à celle que le testicule élabore à ce stade. Pour ces mêmes auteurs, la substance sécrétée dans un premier temps par les testicules embryonnaires, responsable de la régression des canaux de Müller, est différente de la testostérone qui, injectée précocement, en provoque l'agénésie.

Les injections d'hormones sexuelles chez les Reptiles ont donné dans l'ensemble des résultats superposables à ceux obtenus chez les Oiseaux par la même méthode (Dantschakoff, 1937 ; Forbes, 1938 *a* et *b*, 1939 ; Risley, 1940, 1941 ; Combescot, 1956 ; Vivien, 1959 ; Stefan, 1958, 1963). Stefan, administrant des œstrogènes à de jeunes mâles de Tortue *Emys leprosa* a réussi à stimuler les résidus corticaux persistant à la surface des testicules et à les transformer ainsi en véritable cortex ovarien. Il est par ailleurs très remarquable que des gonocytes localisés dans la médulla de testicules immatures puissent évoluer en ovocytes sous l'influence des hormones œstrogènes.

Mammifères. — Malgré de nombreux essais sur différentes espèces de Mammifères, le résultat le plus marquant de l'« expérience naturelle » du Free-Martin des Bovidæ (Keller et Tandler, 1916 ; Lillie, 1916-1917), la masculinisation des gonades femelles n'a jamais pu être reproduite par administration précoce d'hormones sexuelles (Jost et coll., 1963). Aucune modification significative des gonades, dans un sens ou dans, l'autre n'a été obtenue par cette méthode, si ce n'est chez un Marsupial l'Opossum *Didelphys virginiana* dont Burns (1951-1955), injectant du dipropionate d'œstradiol a réussi à féminiser les jeunes testicules. Le remarquable succès de ces expériences doit être attribué sans doute aux injections directes et précoces rendues possibles chez l'Opossum par la brièveté de la gestation. Ce seul résultat positif appuie de manière décisive la conception hormonale de la différenciation sexuelle chez les Mammifères.

Les modifications (stimulation et inhibition) des territoires somatiques induites par des traitements hormonaux ont été, d'une manière générale, en accord avec la conception classique des actions hormonales selon laquelle chaque type d'hormone agit de manière spécifique (Dantschakoff, 1936, 1938 ; Raynaud, 1942 ; Burns, 1942 ; Jost, 1947 ; Jost et coll., 1963). Schématiquement, le développement d'une ébauche mâle (canaux déférents, épididymes, bourgeons prostatiques) est stimulé par une hormone

mâle, inhibé par une hormone femelle, celui d'une ébauche femelle (conduits mülleriens) est stimulé par une hormone femelle, inhibé par une hormone mâle.

***

L'étude faite en première partie de l'organogenèse uro-génitale chez la petite Roussette nous a permis de découvrir les territoires qui, à partir d'un stade d'indifférence sexuelle, évoluent différemment selon qu'ils appartiennent à un organisme du sexe mâle ou femelle : ce sont le rein antérieur, les constituants somatiques des gonades, les canaux de Müller, les nageoires pelviennes. Ainsi qu'il en est chez les autres Vertébrés, la différenciation du sexe résulte de phénomènes de régression ou de croissance préférentielle intéressant ces différents territoires. L'étude de l'influence que peuvent avoir les hormones androgènes et gynogènes sur la différenciation sexuelle consistera donc essentiellement à comparer l'organogenèse sexuelle normale, décrite en 1re partie, à celle d'embryons qui auront été soumis à des traitements hormonaux d'importance variable, à partir d'un stade précédent ou faisant suite à l'apparition du premier variant sexuel. Nous appellerons donc « stade indifférencié » celui qui précède l'évolution divergente des premiers segments du mésonéphros. Dans ces conditions, la taille d'un embryon de Roussette indifférencié est nécessairement inférieure à 16 millimètres.

Au moment même où paraissaient mes premiers travaux sur l'action des hormones sexuelles dans la morphogenèse uro-génitale de la Roussette (Thiebold, 1952 *a*, *b*, *c* ; 1953, 1954, 1955), G. Chieffi publiait les résultats que lui-même avait enregistrés dans ce domaine. On en trouvera un exposé d'ensemble in *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, 1959, *48 bis*, pp. 21-36.

II. — MÉTHODE D'INJECTION

Il ne sera question ici que de deux types de traitements hormonaux, l'un « androgène », l'autre « gynogène ». Les hormones que j'ai régulièrement utilisées sont le propionate de testostérone (traitements androgènes) et le benzoate d'œstradiol (traitements gynogènes) en solution huileuse à différentes concentrations (*sterandryl* et *benzogynoestryl* des Laboratoires Roussel). Quelques séries d'embryons témoins ont reçu un même volume d'huile d'olive neutre, qui est le solvant du principe actif dans les préparations hormonales que j'ai utilisées.

La solution hormonale comme l'huile neutre ont été injectées dans le vitellus de l'embryon. Je me suis servi pour cela d'une seringue graduée au centième de centimètre cube et dans certains cas, pour les volumes faibles, d'une microseringue (*) graduée au cinq millième de centimètre cube. Une longue aiguille permet de traverser la partie cornée de l'oothèque puis la substance albumineuse pour pénétrer jusqu'au milieu de la boule vitelline par le pôle opposé à l'embryon. On injecte alors très lentement le volume voulu de solution huileuse en évitant tout mouvement de l'aiguille. Après l'injection, la goutte d'huile vient se placer près de la surface et forme une hernie sous la « membrane vitelline », d'autant plus apparente que l'embryon est jeune et que par conséquent la membrane est ténue. Dans la plupart des cas on réussit à amener la goutte à la base du pédoncule ombilical de l'embryon.

(*) « Agla » micrometer syringe outfit. Burroughs Wellcome, London, England.

III. — RELATION DES RÉSULTATS

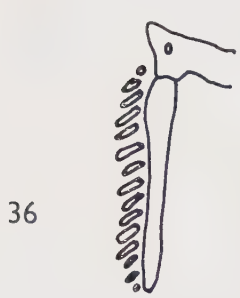
Le compte rendu de l'ensemble des expériences d'injections est donné par le tableau I. Je n'y ai pas fait figurer le détail des injections d'huile d'olive neutre. Disons tout de suite et pour ne plus y revenir que les 25 embryons témoins, soumis à des injections de différents volumes de solvant pur, étudiés histologiquement, ont tous montré une morphologie uro-génitale parfaitement superposable à celle d'embryons de même taille et de même sexe n'ayant subi aucun traitement. Cette constatation nous permettra d'attribuer les modifications observées ches les embryons soumis à un traitement hormonal, à l'action du principe actif contenu dans les préparations utilisées.

Tableau I

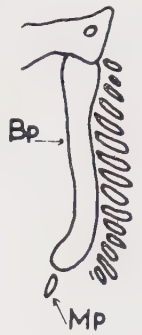
Séries	Substance injectée	Dose	Stade à l'injection	Nombre d'embryons infectés	Nombre d'embryons autopsiés (Taille 35-80 mm.)		Nombre d'embryons étudiés histologiquement	
					mâles	femelles	mâles	femelles
I	Benzoate d'œstradiol	0,05 mg. 0,01 mg.	7-10 mm.	98 37	29 12	34 7	14 8	19 5
II	*Id.*	0,05 mg.	20-30 mm.	20	9	7	9	7
III	*Id.*	0,05 mg.	32-35 mm.	12	5	2	5	2
IV	Propionate de testostérone	1 mg. 0,1 mg.	7-10 mm.	79 32	9 10	9 13	9 6	9 10
V	*Id.*	0,5 mg.	32-35 mm.	30	13	12	5	6
Témoins	Huile d'olive neutre	Différents volumes entre 1/100 et 1/10 cm^3	Avant et après différenciation	48	17	21	11	14

Série I. — *Hormone femelle injectée au stade 7-10 millimètres.*

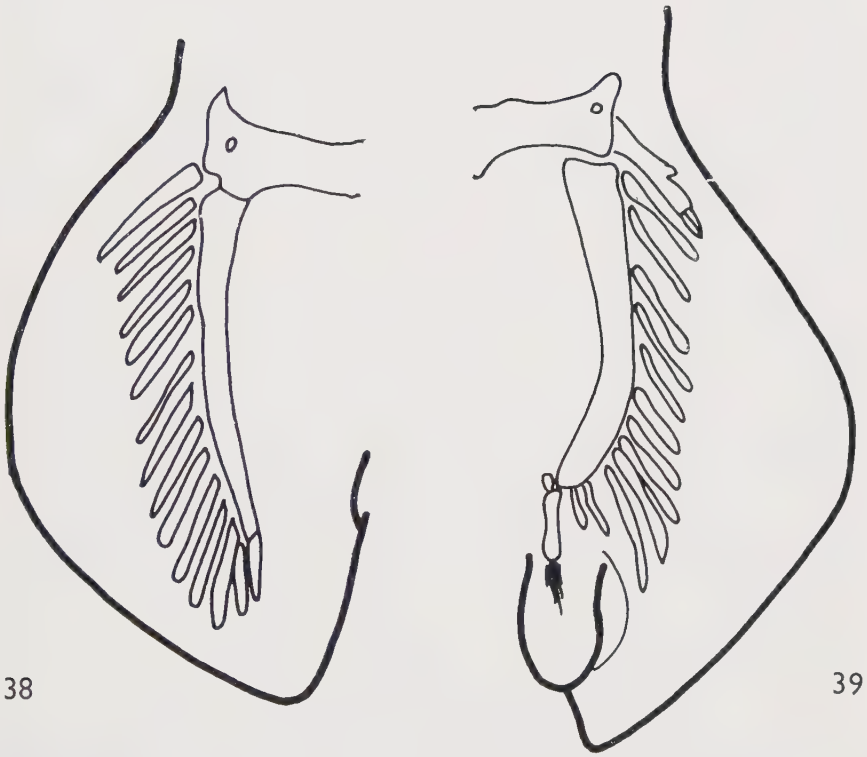
Les embryons de cette série ont été traités de façon précoce, avant que ne se manifeste, au niveau du mésonéphros antérieur, le premier indice de l'orientation sexuelle. Pour chaque dose éprouvée, 0,05 et 0,01 mg., les résultats peuvent être considérés comme très constants. Les embryons traités n'ont montré aucune modification externe par rapport aux témoins : même type de croissance, apparition normale, à partir du stade 30 milli-



36



37



38

39

Fig. 36. — Femelle, *32 millimètres.*

Fig. 37. — Mâle, *32 millimètres.*

Fig. 38. — Femelle, *55 millimètres.*

Fig. 39. — Mâle, *55 millimètres.*

Pièces squelettiques de la demi-nageoire pelvienne
dessinées à la chambre claire après coloration et éclaircissement.

mètres, des bourgeons myxoptérygiaux chez certains embryons diagnostiqués à ce titre comme mâles, ce qu'a confirmé une étude morphologique plus complète.

Dose 0,05 mg.

— *Étude des embryons femelles.*

Gonades, mésonéphros et nageoires pelviennes ne montrent aucune modification appréciable chez les embryons traités, autopsiés à différents stades du développement. Des transformations importantes ont par contre été enregistrées au niveau des canaux de Müller et de Wolff.

Canaux de Müller. — Une forte hypertrophie affecte les canaux de Müller de tous les embryons de ce lot, autopsiés entre les stades 35 et 80 millimètres. L'étude des sujets jeunes (25-40 millimètres) permet de se rendre compte que les processus de la différenciation müllérienne n'ont pas été modifiés par le traitement hormonal : les canaux s'individualisent à partir de la paroi ventrale de l'uretère primaire dans les mêmes conditions que ches les embryons témoins, sans que ce processus se réalise prématurément. Aussitôt individualisés, les tronçons müllériens antérieurs montrent une tendance à l'hypertrophie qui se maintiendra durant toute la vie embryonnaire. L'hypertrophie résulte d'un élargissement de la lumière, d'un épaississement de l'épithélium et d'une hyperplasie des tuniques conjonctives.

Des mesures de sections transversales de canaux de Müller ont été pratiquées tout au long de leur parcours au niveau de chaque segment du tronc. Le profil que l'on peut tracer à partir de ces mesures se révèle, compte tenu de l'hypertrophie, semblable à celui des canaux de Müller d'embryons témoins (fig. 40). L'étude histologique de la région de plus grand diamètre révèle une activité particulière de l'épithélium müllérien qui pousse des invaginations dans la lumière (fig. 42). Ces transformations épithéliales sont limitées à une région bien définie, correspondant à l'emplacement de la future glande nidamentaire. Elles peuvent être interprétées comme les premiers signes de la différenciation de cette glande.

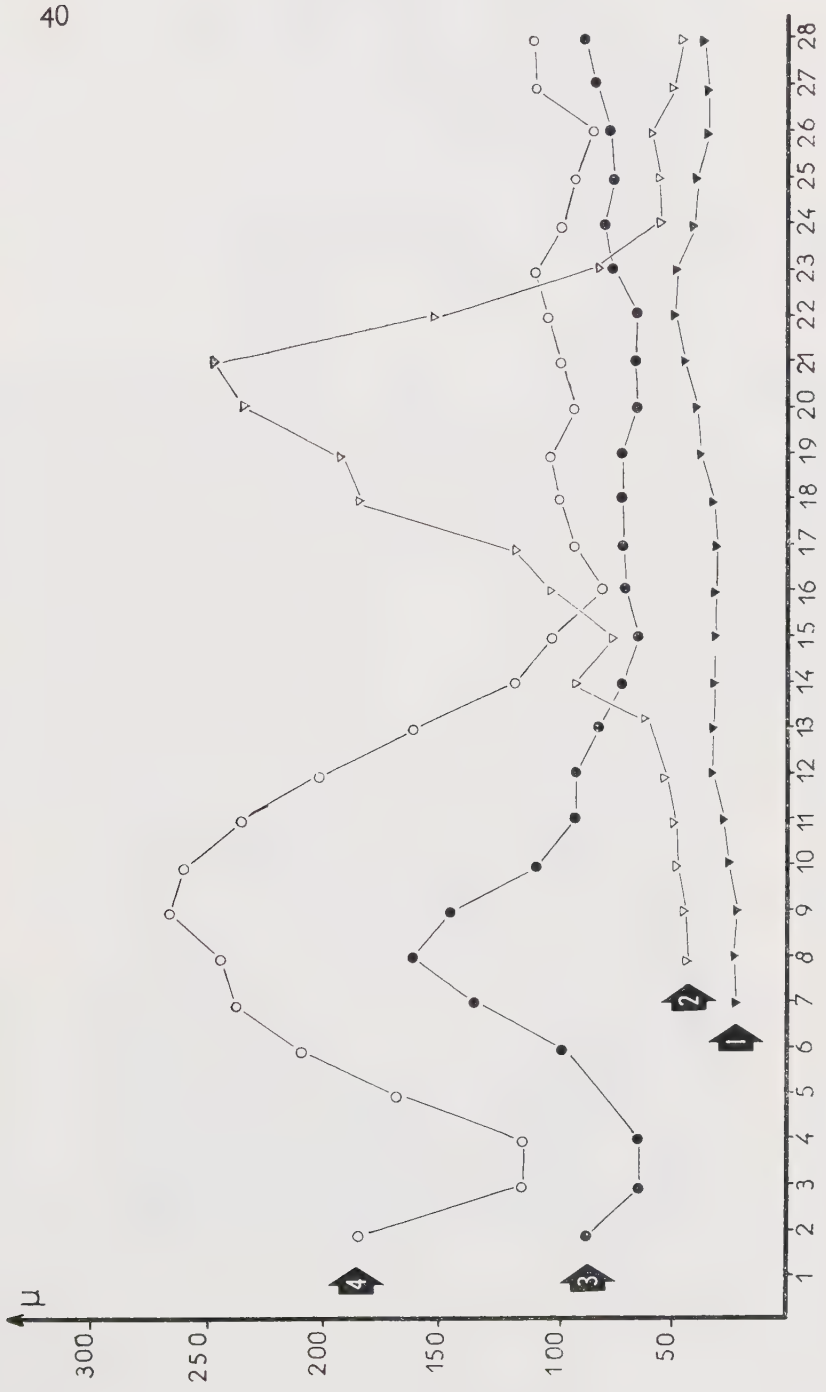
Fig. 40. — Représentation du profil des canaux de Wolff (1, 2) et de Müller (3, 4).

1. Canal de Wolff, femelle témoin 60 millimètres ; 2. Canal de Wolff, femelle 60 millimètres, série IV (0,01 mg. propionate de testostérone avant la différenciation sexuelle) ; 3. Canal de Müller, femelle témoin 60 millimètres ; 4. Canal de Müller, femelle 60 millimètres, série I (0,05 mg. benzoate d'œstradiol avant la différenciation sexuelle).

En ordonnées : diamètre moyen des canaux en μ.

En abscisses : segments du tronc correspondant aux racines dorsales des nerfs spinaux. *A gauche*, la région antérieure.

Chaque courbe résulte de mesures faites sur trois embryons.


40
μ
300
250
200
150
100
50
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28
1
2
3
4

41

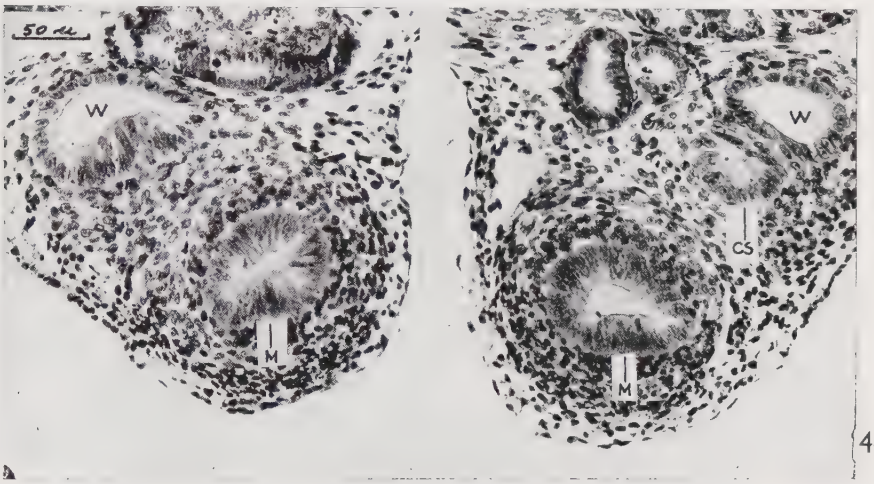
42

Fig. 41. — *60 millimètres*, femelle. Canal de Müller fortement stimulé par le traitement gynogène. Proliférations de l'épithélium au niveau de la future glande nidamentaire. Gr : 125 ×.

Fig. 42. — *60 millimètres*, femelle. Témoin. Coupe transversale au même niveau que figure 42. Gr : 125 ×.

Canaux de Wolff. — Comme les canaux de Müller, les canaux de Wolff réagissent au traitement hormonal femelle en s'hypertrophiant. Si par le même procédé de mesure des diamètres, on représente leur profil par une courbe on peut également constater l'existence d'une polarité, mais à l'inverse de ce que l'on observe pour les canaux de Müller, l'hypertrophie des canaux de Wolff est plus marquée dans leur portion distale.

A l'examen histologique, on peut se rendre compte que l'hypertrophie résulte d'une dilatation, d'un élargissement de la lumière, plutôt que de l'épaississement des parois. Pourtant, si la partie dorsale de l'épithélium reste régulièrement mince, formée d'une seule assise de cellules aplaties,



43 44

Fig. 43 et 44. — *52 millimètres*, mâles. Formation d'un tronçon müllérien surnuméraire à partir d'un épaississement de l'épithélium wolffien dans la région moyenne du tronc après traitement gynogène.

sa partie ventrale peut montrer des épaississements qui résultent de la superposition de plusieurs couches cellulaires.

Ces épaississements, irrégulièrement répartis sur le tronçon moyen des canaux de Wolff, peuvent proliférer et, se creusant d'une lumière, donner naissance à un canal individualisé placé entre le canal de Wolff et le canal de Müller (fig. 43 et 44). Le mode de formation de ce nouveau canal est en tous points semblable à celui du canal de Müller lorsqu'il s'individualise à partir de la paroi ventrale de l'uretère primaire chez les embryons femelles au moment de leur différenciation. Il est à noter que de telles proliférations de la paroi ventrale de l'épithélium wolffien ont pu être observées chez la plupart des embryons femelles de cette série. Les tronçons de canaux surnuméraires sont le plus souvent très courts et dans tous les cas ils sont rattachés à leur extrémité distale au canal de Wolff qui leur a donné naissance.

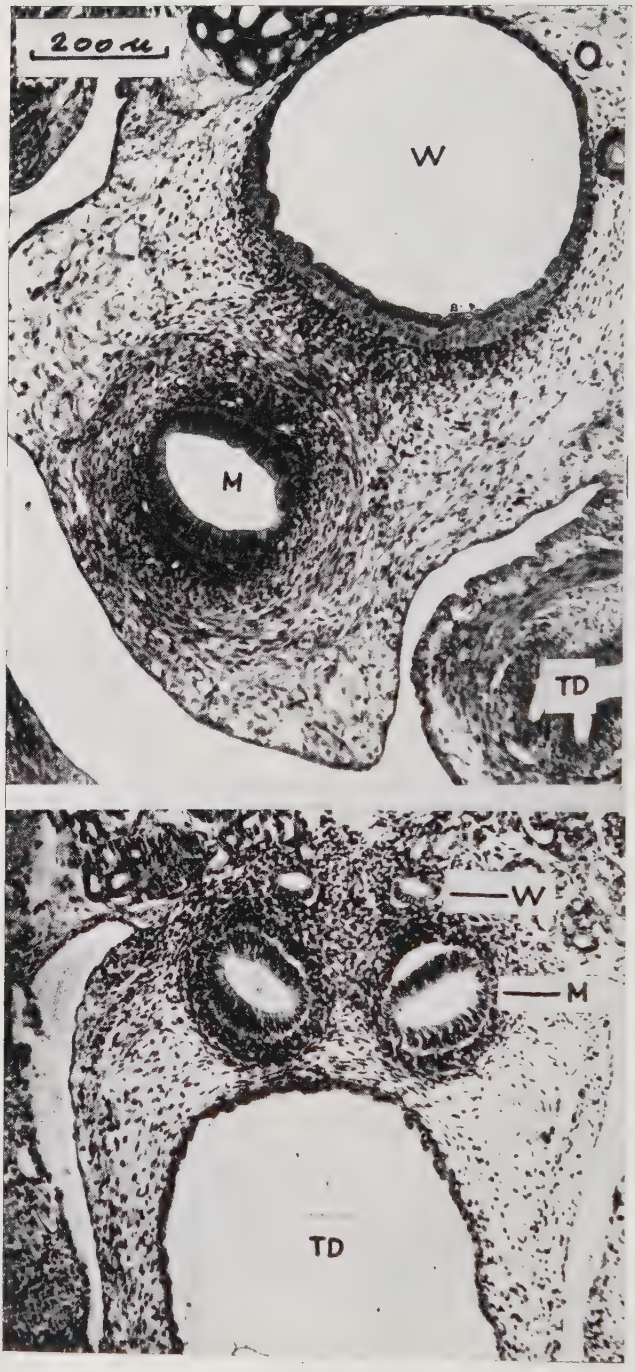


Fig. 45 et 46. — *60 millimètres*, femelle. Canaux de Wolff et de Müller dans la région postérieure du tronc chez un embryon femelle après traitement gynogène (fig. 46) et chez un embryon femelle témoin (fig. 47).

Dans son segment postérieur, le canal de Wolff dilaté présente une paroi ventrale régulièrement épaissie (fig. 45). On n'observe pas à ce niveau de tronçons canaliculaires surnuméraires.

Étude des embryons mâles.

Rein antérieur et nageoires pelviennes ne présentent aucune modification chez les embryons de sexe mâle, soumis au traitement homornal femelle. De profondes transformations affectent par contre les gonades, les canaux de Müller et les canaux de Wolff.

Gonades. — Nous décrirons comme exemple un embryon mesurant 50 millimètres : l'examen macroscopique révèle un plus grand développement de la gonade droite par rapport à la gonade gauche. L'étude histologique confirme cette première observation et permet de constater que la différence de taille est comparable à celle des glandes génitales d'un embryon femelle au même stade. Il apparaît d'autre part que les gonades de l'embryon traité ont une forme déprimée, s'amincissant au bord externe, ce qui est une autre caractéristique du sexe femelle (fig. 47).

Pour ce qui est de leur structure, les gonades présentent deux régions distinctes, un cortex dorsal séparé d'une médulla ventrale par une basale épaisse à peu près rectiligne. La grande majorité des cellules germinales sont localisées dans la partie corticale : certaines sont en mitose de multiplication, les plus nombreuses sont au repos. La médulla est formée d'un tissu dense de petites cellules épithéliales contenant quelques cellules germinales isolées, en beaucoup moins grand nombre que dans le tissu médullaire d'une gonade mâle témoin (fig. 47 et 48).

En somme, les glandes génitales des mâles soumis au traitement gynogène présentent à la fois des caractères mâles et des caractères femelles. Par la différence de taille entre les deux ébauches, l'aplatissement dorso-ventral, la présence d'un cortex distinct richement pourvu en éléments germinaux elles rappellent la structure ovarienne. La présence de cellules germinales dans le tissu médullaire est au contraire une caractéristique de la structure testiculaire.

Canaux de Müller. — Chez tous les embryons mâles de cette série, il a pu être observé que les canaux de Müller étaient développés depuis l'ostium jusqu'au cloaque. Ils présentent les particularités morphologiques que nous avons décrites plus haut, à propos des canaux de Müller des embryons femelles ayant subi le même traitement hormonal : hypertrophie correspondant à un gradient caudo-cranial, début de la différenciation nidamentaire.

Canaux de Wolff. — La dilatation des canaux de Wolff est surtout sensible dans la région distale, la formation de tronçons canaliculaires surnuméraires à partir d'un épaississement de leur paroi ventrale ont été relevés comme chez les embryons femelles de cette série.

47

48

Fig. 47. — *50 millimètres*, mâle. Glandes génitales féminisées et canal de Müller chez un embryon mâle après traitement gynogène.

Fig. 48. — *50 millimètres*, mâle. Glande génitale féminisée. Cortex, 2 cellules germinales dans la médulla.

Dose 0,01 mg.

Les embryons femelles traités par cette dose de benzoate d'œstradiol ne présentent aucune modification décelable de leur appareil uro-génital si ce n'est (2 cas observés) une légère dilatation du segment wolffien distal.

Les embryons mâles se distinguent des témoins par leurs canaux de Müller entièrement développés, comparables par leur structure à ceux de femelles de même taille, et par une légère dilatation du segment distal

des canaux de Wolff. Les gonades enfin sont transformées en ovotestis dans les mêmes conditions qu'après un traitement œstrogène à la dose de 0,05 mg.

Ce lot expérimental permet de montrer que l'intensité des transformations enregistrées au niveau des conduits uro-génitaux est proportionnelle à la dose d'hormone administrée.

Série II. — *Hormone femelle injectée au stade 20-33 millimètres.*

Cette série expérimentale a été réalisée à la suite de la série précédente afin de contrôler la réactivité de gonades morphologiquement indifférenciées, mais appartenant à des embryons déjà orientés sexuellement par les caractères du rein antérieur. L'injection de benzoate d'œstradiol a donc été faite au stade 20-33 millimètres. Une seule dose a été étudiée, celle de 0,05 mg. correspondant à 0,01 cm³ de benzogynœstryl « 5 » Roussel.

Les embryons ainsi traités, sacrifiés entre les stades 40 et 70 millimètres présentent les mêmes modifications de l'appareil uro-génital que ceux de la série précédente traités à la même dose mais à un stade plus précoce, avant la différenciation des segments antérieurs du mésonéphros. En particulier, les gonades des embryons mâles sont transformées en ovotestis, caractérisés par la forme aplatie, la juxtaposition d'un cortex et d'un tissu médullaire contenant des éléments germinaux.

Nous verrons plus loin, au chapitre de la discussion des résultats, la signification qu'il faut donner à ces observations et les conclusions que l'on peut en tirer quant à l'état de la gonade avant le stade 28-30 millimètres correspondant à leur différenciation morphologique.

Série III. — *Hormone femelle injectée au stade 32-35 millimètres.*

Quelles transformations de l'appareil uro-génital peut-on enregistrer chez des embryons soumis au traitement hormonal femelle après le stade de la différenciation sexuelle des gonades et des territoires somatiques ? Pour répondre à cette question, une série expérimentale a été réalisée où des embryons, mesurant entre 32 et 35 millimètres, ont reçu 0,05 mg. de benzoate d'œstradiol.

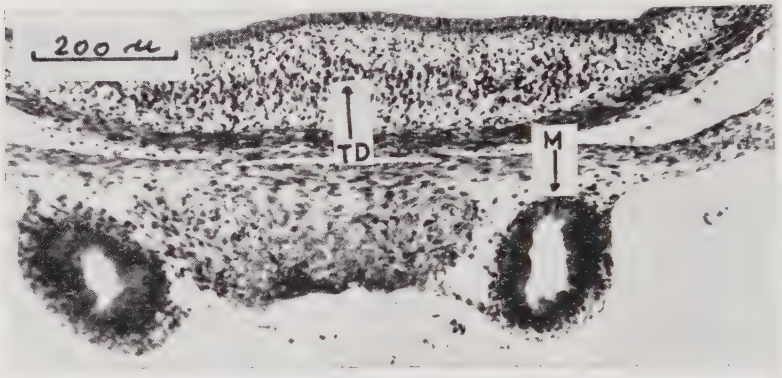
Les embryons femelles de cette série ont montré, avec une intensité nettement accrue, les stimulations müllériennes décrites précédemment à propos du traitement par la même dose d'hormone administrée avant la différenciation sexuelle. Toutefois, dans aucun cas il n'a pu être observé de bourgeonnement de la paroi ventrale du canal de Wolff donnant naissance à un canal surnuméraire.

L'étude des embryons mâles a permis les constatations suivantes :

— Les gonades sont de forme et de structure testiculaires normales. On peut rappeler à ce propos qu'au moment où l'injection a été pratiquée,

les éléments germinaux des gonades mâles avaient amorcé leur migration dans la zone médullaire, la majorité d'entre eux ayant déjà abandonné l'épithélium germinatif. Toutefois il existe encore à ce stade, au bord latéro-dorsal de chaque ébauche une « zone corticale » contenant des cellules germinales, qui se maintiendra quelque temps puisqu'on peut la retrouver chez des embryons mesurant 40 millimètres (fig. 5). Les expériences d'injections tardives montrent que ces territoires « corticaux » ne sont plus sensibles à l'action de l'hormone femelle qui ne parvient pas à les maintenir comme elle maintient l'épithélium germinatif des gonades plus jeunes.

— A l'image des embryons mâles témoins, les canaux de Müller ne sont pas développés chez les individus mâles de cette série. Il faut noter



49

Fig. 49. — *72 millimètres*, mâle. Résidus ostiaux des canaux de Müller chez un embryon mâle après traitement gynogène postérieur à la différenciation sexuelle.

pourtant que les résidus mülleriens antérieurs (« trompes mâles ») ont été stimulés par le traitement hormonal femelle ; leur épithélium fortement épaissi reste donc sensible à l'action gynogène (fig. 49).

En ce qui concerne les canaux de Wolff, enfin, ils montrent une importante dilatation, s'accentuant de l'avant vers l'arrière avec épaississement de leur paroi ventrale. Comme chez les embryons femelles, je n'ai observé en aucun cas la formation de canaux surnuméraires.

Série IV. — *Hormone mâle injectée au stade 7-10 millimètres.*

Deux doses différentes de propionate de testostérone, 1 milligramme et 0,1 mg ont été administrées à deux lots différents d'embryons. Pour la dose la plus forte il a été observé une mortalité particulièrement élevée que l'on peut sans doute, par comparaison avec les autres séries et en particulier avec les séries témoins (injections d'huile d'olive), attribuer

à la nature du principe actif. Par ailleurs, certains des embryons ayant reçu 1 milligramme de propionate de testostérone présentaient des malformations touchant à la forme du corps (enroulements plus ou moins importants de la partie caudale : 6 cas observés). Les embryons traités par des doses plus faibles (0,5 et 0,1 mg.) montraient tous une morphologie externe normale.

Dose 1 milligramme.

Étude des embryons femelles.

Gonades. — Les transformations observées au niveau des gonades des embryons femelles soumis au traitement androgène sont peu importantes. On retrouve les deux constituants caractéristiques de l'ovaire, cortex et médulla, le premier contenant la totalité des éléments germinaux. Les trois points suivants méritent pourtant d'être relevés : les gonades sont de taille réduite, le tissu médullaire est régulièrement lâche, il n'a jamais été observé, comme chez les témoins, d'infiltration d'éléments lymphoïdes dans la médulla.

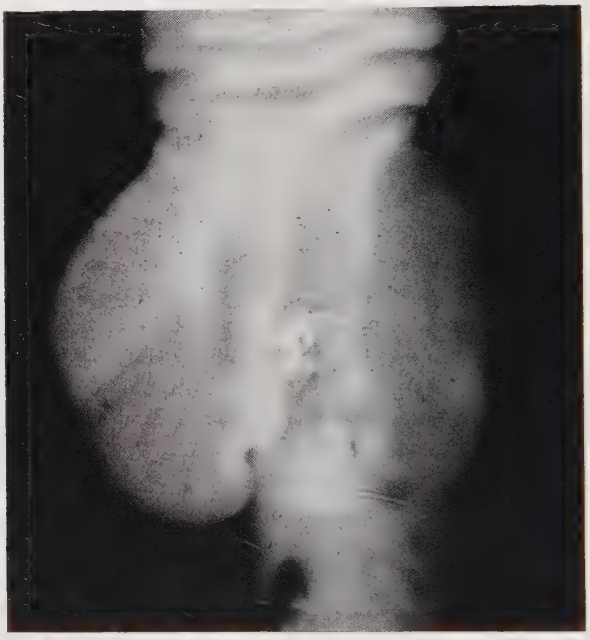
Nageoires pelviennes. — Sur les 9 embryons femelles de ce lot, autopsiés après le stade 35 millimètres, 5 présentaient une région pelvienne atypique. Les deux bords internes des nageoires étaient écartés l'un de l'autre au lieu d'être jointifs sur la ligne médiane, la papille ano-uro-génitale faisant plus ou moins saillie à l'extérieur (fig. 50). Je pense qu'il faut attribuer ces modifications à une action tératogène de l'hormone utilisée à forte dose et non pas à une action spécifiquement masculinisante. Rappelons que d'autres malformations ont été observées après ce traitement. Par ailleurs l'étude des pièces squelettiques après coloration et éclaircissement montre qu'elles sont de type femelle.

Rein antérieur. — L'hormone mâle ne modifie pas les premières étapes de la différenciation du mésonéphros. C'est ce qu'a montré l'étude de la région antérieure du tronc chez tous les embryons femelles de ce lot, où j'ai pu compter le même nombre de segments entre l'ostium et le premier segment rénal que chez les embryons témoins. Cette observation montre donc que les 5 à 7 premiers segments mésonéphrotiques ont été arrêtés dans leur développement et ont régressé normalement chez les embryons femelles soumis au traitement hormonal.

Une action fortement stimulatrice a par contre été enregistrée au niveau du rein antérieur qui fait suite à la zone dianéphrotique. Le diamètre des canalicules rénaux peut atteindre le quadruple de celui des canalicules d'embryons témoins. L'épithélium est beaucoup plus épais, constitué de cellules hautes et non plus cubiques, dont certaines sont ciliées. Cette hypertrophie intéresse environ la moitié de l'ensemble du mésonéphros ; elle est très sensible à l'extrémité antérieure et s'atténue régulièrement vers l'arrière de sorte que l'on passe insensiblement de la forme hypertrophiée à une structure normale. L'absence de corpuscules de

Malpighi et de tissu lymphoïde intercanaliculaire distingue par ailleurs les premiers segments rénaux des structures homologues chez les témoins.

Canaux de Müller. — Chez les embryons traités, quelle que soit leur taille (35-80 millimètres), les canaux de Müller peuvent être suivis de l'avant vers l'arrière jusqu'à un certain niveau — le tiers postérieur du tronc en général — où ils communiquent avec les canaux de Wolff qui leur sont superposés. En arrière de cette jonction le canal recevant à sa face dorsale les canaux collecteurs du rein, représente donc l'uretère primaire resté indivis de sorte que nous retrouvons chez des embryons âgés,



50

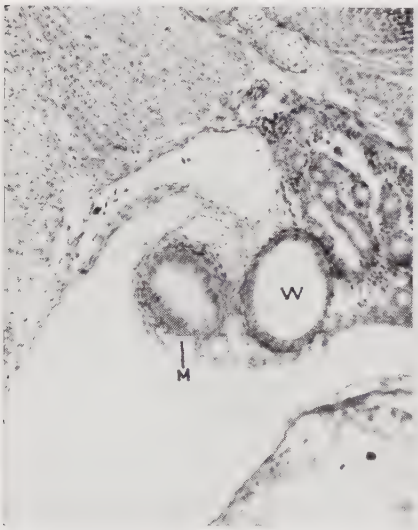
Fig. 50. — *52 millimètres*, femelle. Déformation de la région pelvienne chez un embryon femelle après traitement androgène (1 milligramme de propionate de testostérone avant la différenciation sexuelle).

les relations entre canal de Müller, canal de Wolff et uretère primaire caractéristique de l'embryon femelle plus jeune (30-35 millimètres) antéro-postérieure. L'hormone mâle utilisée à forte dose a donc eu comme premier effet de bloquer le développement müllérien.

Ce ne sont pas là les seules transformations observées. Les canaux de Müller présentent une très nette hypertrophie, particulièrement marquée dans leur segment antérieur. A ce niveau le canal est contourné, son épithélium fortement épaissi forme les digitations désordonnées, de sorte qu'il est souvent difficile de le distinguer du canal de Wolff également hyperplasique et contourné. On ne retrouve pas ici les transformations müllériennes limitées à un niveau bien déterminé, et que nous avons

interprétées comme des différenciations nidamentaires chez les embryons mâles et femelles traités par le benzoate d'œstradiol.

Canaux de Wolff. — Dans leur région antérieure, les canaux de Wolff sont contournés et hyperplasiques. Les sections transversales font apparaître une structure identique à celle des canalicules rénaux au même niveau de sorte que la destruction est souvent malaisée. Plus en arrière, ils s'élargissent considérablement, en même temps que leur épithélium s'amincit (fig. 51). A partir du niveau de la jonction avec les canaux de Müller, les canaux de Wolff, représentant l'uretère primaire resté indivis, peuvent atteindre un développement tel qu'ils envahissent l'espace libre laissé dans la cavité générale entre le tube digestif et les parois du



51

52

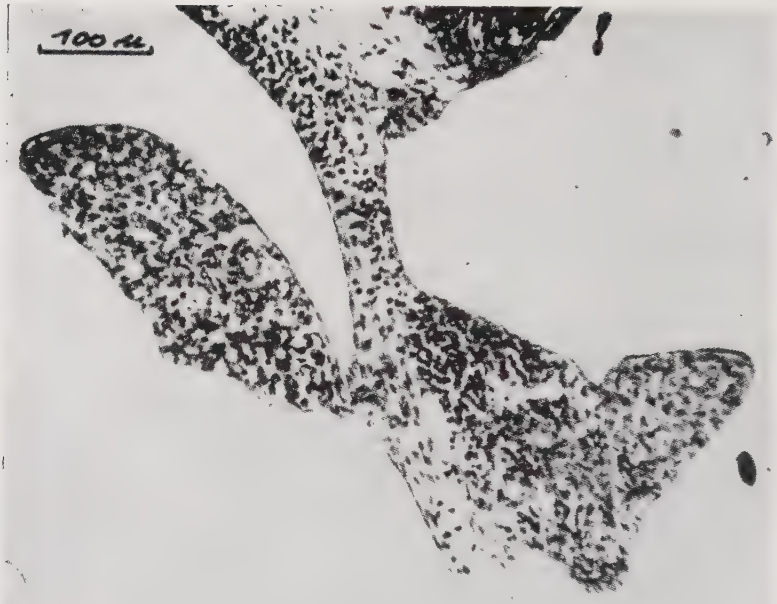
Fig. 51. — *66 millimètres*, femelle. Canaux de Müller et de Wolff, légèrement en avant de la limite d'agénésie müllérienne, chez un embryon femelle ayant reçu 1 milligramme de propionate de testostérone avant la différenciation sexuelle. Gr : 150 ×.

Fig. 52. — *66 millimètres*, femelle. Coupe transversale du même embryon que figure 51 en arrière de la limite d'agénésie müllérienne. Gr : 20 ×.

corps. Ces poches démesurément dilatées (fig. 52) reçoivent dorsalement les canaux collecteurs du rein et sont intimement accolées ventralement à l'épithélium cœlomique qu'elles ont refoulé. A proximité du cloaque, le diamètre des uretères primaires redevient plus normal en même temps que leur épithélium s'épaissit.

— *Étude des embryons mâles.*

Le sexe de ces embryons a été immédiatement reconnu à la présence d'organes copulateurs normalement développés. De profondes transforma-

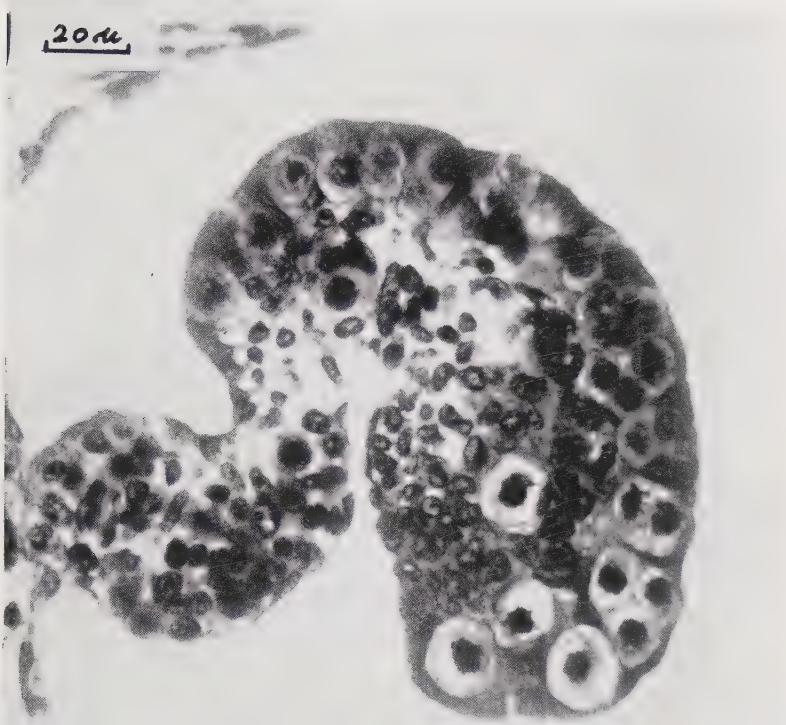


53

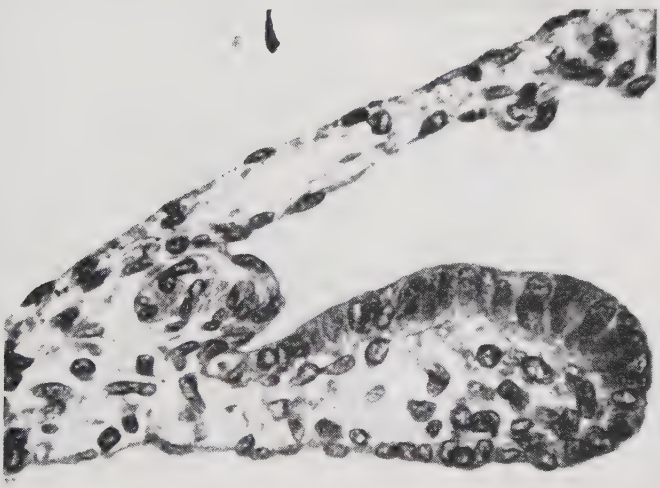
54

Fig. 53. *70 millimètres*, mâle. Coupe transversale à travers les gonades d'un embryon témoin.

Fig. 54. — *70 millimètres*, mâle. Coupe transversale à travers les gonades d'un embryon mâle ayant reçu 1 milligramme de propionate de testostérone avant la différenciation sexuelle.

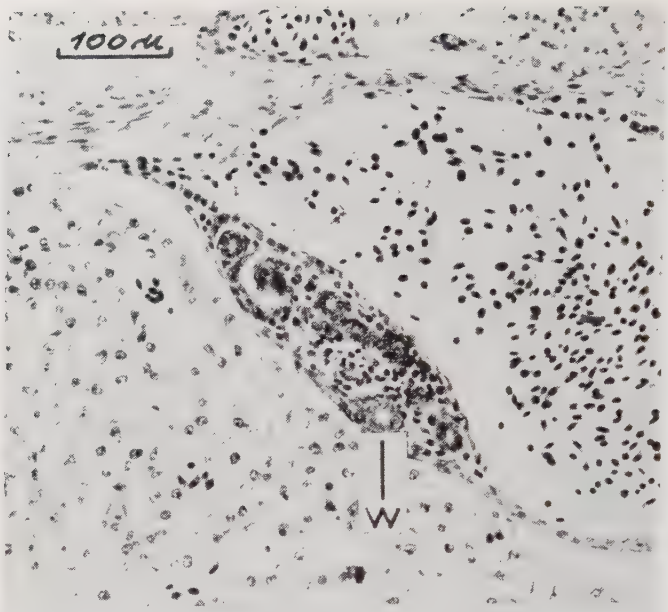


55

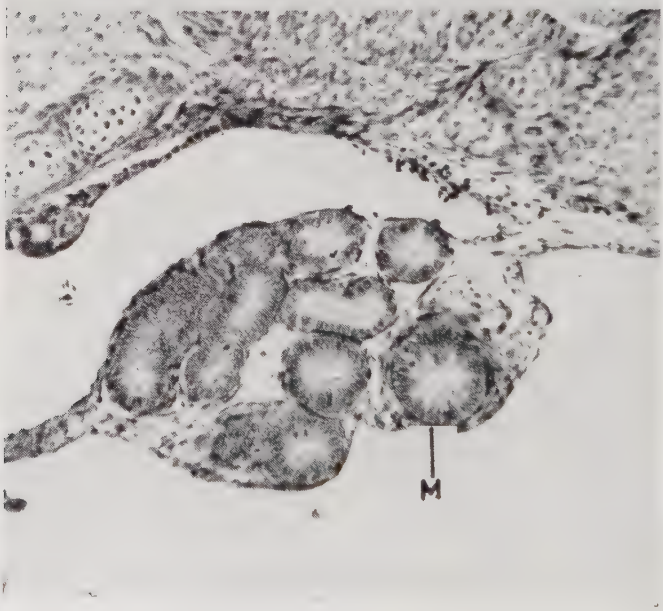


56

Fig. 55 et 56. — *70 millimètres*, mâles. Deux coupes dans la région moyenne (55) et antérieure (56) de la gonade d'un embryon mâle ayant reçu 1 milligramme de propionate de testostérone avant la différenciation sexuelle.



57



58

Fig. 57. — *59 millimètres*, mâle. Région antérieure du mésonéphros chez un embryon mâle témoin. Corpuscule de Malpighi. Tissu lympho-myéloïde.

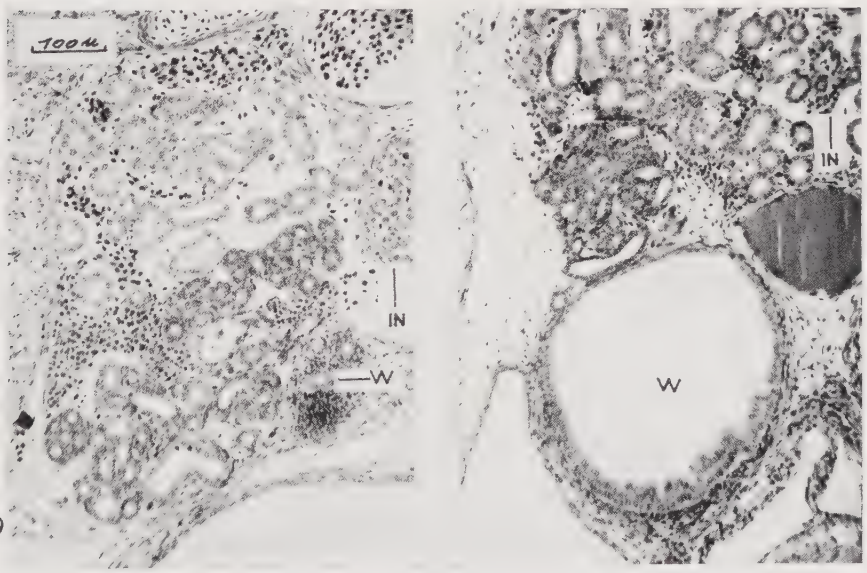
Fig. 58. — *59 millimètres*, mâle. Région antérieure du mésonéphros chez un embryon mâle ayant reçu 1 milligramme de propionate de testostérone avant la différenciation sexuelle. Hyperplasie des canalicules. Absence de corpuscules de Malpighi et de tissu lympho-myéloïde. Canal de Müller développé.

tions ont été enregistrées au niveau des gonades, du rein antérieur, des conduits müllériens et wolffiens.

Gonades. — Les gonades des embryons mâles soumis au traitement androgène à forte dose sont toutes de très petite taille par rapport à celles des témoins (fig. 54). On constate par ailleurs que la presque totalité des cellules germinales sont localisées dans un cortex bien individualisé. Certaines d'entre elles, le plus souvent localisées au bord externe du cortex, présentent une masse chromatique compacte dans une vacuole claire : ce sont là des images de contraction synaptique (fig. 55, 23) que l'on peut observer dans les ovaires embryonnaires. Dans la région antérieure, le cortex est pauvre en éléments germinaux et présente parfois des plages qui en sont totalement dépourvues (fig. 56).

La médulla est très réduite en épaisseur ; des éléments lymphoïdes peuvent être reconnus dans la région du hile mais ne pénètrent en aucun cas dans le tissu médullaire.

Rein antérieur. — Comme chez les témoins, on peut reconnaître les embryons mâles et les embryons femelles à l'étendue de la zone dianéphrotique comprise entre l'ostium et le premier segment mésonéphrotique. Ceci dit, le rein antérieur présente les mêmes transformations chez tous les embryons traités par l'hormone androgène : hyperplasie des canalicules,



59 60

Fig. 59. — *59 millimètres*, mâle. Région postérieure du mésonéphros chez le même embryon que figure 57.

Fig. 60. — *59 millimètres*, mâle. Région postérieure du mésonéphros chez le même embryon que figure 58. Remarquer la structure normale des canalicules mésonéphrotiques, la dilatation du canal de Wolff, l'épaississement de sa paroi ventrale, la réduction de taille et la structure lâche de la glande interrénale.

absence d'appareil de filtration au niveau des segments les plus craniaux et de tissu lymphoïde intercanaliculaire (fig. 58).

Canaux de Müller et de Wolff. — Les dispositions de ces conduits sont identiques à celles que nous avons décrites à propos des embryons de sexe femelle : canaux de Müller et canaux de Wolff hyperplasiques et contournés dans leur segment proximal, agénésie müllérienne au niveau du tiers postérieur du tronc, dilatation énorme des canaux de Wolff (uretères primaires) en arrière de cette limite d'agénésie. Chez 3 embryons cette dilatation postérieure du canal de Wolff n'avait pas atteint des proportions aussi spectaculaires ; les conduits présentaient alors un net épaississement de leur paroi ventrale (fig. 60).

Il convient de remarquer que l'hormone mâle injectée a eu pour effet de permettre chez ces embryons mâles, la différenciation müllérienne bien au-delà des limites normales. Pourtant, comme chez les embryons femelles, ce développement a été bloqué à un certain stade. Par ailleurs on peut également mettre sur le compte de l'hormone d'avoir empêché la régression du segment müllérien formé et d'en avoir au contraire stimulé le développement.

Dose 0,1 mg.

Injectée à cette dose plus faible l'hormone mâle exerce les mêmes effets inhibiteurs sur la médulla des gonades mâles. Les stimulations du rein antérieur et des conduits uro-génitaux sont par contre très atténuées. Nous relèverons les points importants suivants :

— Au niveau du rein antérieur une légère hypertrophie des canalicules est encore perceptible chez les embryons de sexe mâle alors qu'elle est nulle chez les femelles.

— Les canaux de Müller sont, comme dans le lot précédent, développés jusqu'au tiers postérieur du tronc chez les embryons mâles, niveau auquel ils se confondent avec les canaux de Wolff. Chez les embryons femelles, par contre, ils sont entièrement développés sauf chez un embryon où l'agénésie intéresse un très court segment distal. Chez tous les embryons, les canaux de Müller présentent un diamètre comparable à celui des femelles témoins de même taille.

— Les canaux de Wolff sont rectilignes, hypertrophiés selon un gradient antéro-postérieur (fig. 40). On ne retrouve pas pourtant ces énormes dilatations du segment distal, décrites à propos du lot précédent. Dans la plupart des cas, on peut observer un épaississement de la paroi ventrale de ces canaux.

Série V. — *Hormone mâle injectée au stade 32-35 millimètres.*

Les embryons de cette série ont reçu, après le stade de la différenciation gonadique une dose « moyenne » de propionate de testostérone (0,5 mg.).

TABLEAU RÉCAPITULATIF

des principaux résultats enregistrés au niveau des différents territoires de l'appareil uro-génital à la suite d'injection d'hormone gynogène (benzoate d'œstradiol).

Stade à l'injection en mm.	Dose d'hormone injectée en mg.	Gonades	Mésonéphros	Canaux de Müller	Canaux de Wolff	Organes copulateurs
7-10 et 20-23	0,05	Femelle : — Mâle : féminisation. Structure d'ovotestis, maintien du cortex, quelques cellules germinales dans la médulla.	—	Femelle : stimulation : hypertrophie selon gradient caudo-crânial. Différenciation nidamentaire précoce. Mâle : développement complet et maintien. Stimulations comme chez la femelle.	Femelle et mâle : dilatation selon gradient cranio-caudal. Épaississement de la paroi épithéliale ventrale. Formation de tronçons mülleriens surnuméraires dans la partie moyenne.	—
7-10	0,01	Femelle : — Mâle : féminisation, ovotestis.	—	Femelle : — Mâle : développement complet et maintien.	Femelle et mâle : légère dilatation du segment distal.	—
32-35	0,05	—	—	Femelle : très forte stimulation. Mâle : stimulation des rudiments ostiaux.	Femelle et mâle : dilatation selon gradient cranio-caudal. Épaississement ventral.	—

TABLEAU RÉCAPITULATIF

des principaux résultats enregistrés au niveau des différents territoires de l'appareil uro-génital à la suite d'injection d'hormone androgène (propionate de testostérone).

Stade à l'injection en mm.	Dose d'hormone injectée en mg.	Gonades	Mésonéphros	Canaux de Müller	Canaux de Wolff	Organes copulateurs
7-10	1	Femelle : réduction de taille. Médulla lâche. Absence d'éléments lymphoïdes. Mâle : réduction de taille. Maintien du cortex. Médulla réduite. Absence d'éléments lymphoïdes.	Femelle et mâle : pas d'action sur la première différenciation. Forte stimulation des segments antérieurs qui acquièrent les caractères histologiques de la glande de Leydig.	Femelle : agénésie du segment distal. Stimulation du segment formé : canaux contournés, hyperplasie, prolifération de l'épithélium. Mâle : développés et maintenus au niveau des 2/3 antérieurs du tronc. Agénésie du segment distal. Stimulations comme chez la femelle.	Femelle et mâle : segment proximal épaissi, contourné. En arrière de limite d'agénésie müllérienne énorme dilatation. Épaississement irrégulier de l'épithélium ventral.	Femelle : quelques cas de déformations de la région pelvienne.
7-10	0,1	Effets inhibiteurs comme pour dose de 1 mg.	Femelle : Mâle : légère stimulation des canalicules des segments antérieurs.	Femelle : normaux sauf chez un embryon où agénésie d'un très court segment distal. Mâle : développés et maintenus au niveau des 2/3 antérieurs du tronc. Agénésie du segment distal.	Femelle et mâle : Dilatation du segment distal. Épaississements de la paroi ventrale.	—
32-35	0,5	Réduction de taille.	Stimulation plus forte chez le mâle que chez la femelle.	Femelle : stimulation du segment antérieur. Mâle : stimulation des résidus ostiaux.	Femelle et mâle : dilatation selon gradient cranio-caudal. Épaississement de la paroi ventrale.	—

Cette expérience révèle que la sensibilité des territoires mise en évidence par la série précédente (injections d'hormone au stade précoce) est maintenue au-delà du stade de la différenciation sexuelle.

Les gonades des embryons mâles sont inhibées mais ne présentent aucune trace de structure corticale (rappelons qu'au moment de l'injection les éléments avaient déjà, pour la plupart, migré dans la médulla).

Les canalicules des segments antérieurs du rein sont hypertrophiés : il est important d'observer que la réaction est sensiblement moins importante chez les embryons femelles que chez les embryons mâles.

Les canaux de Müller, hypertrophiés dans leur segment antérieur chez les embryons femelles, ne se sont pas développés chez les embryons mâles où l'on peut relever toutefois une franche stimulation du segment ostial.

Les canaux de Wolff enfin montrent une dilatation plus ou moins importante selon les individus, assortie parfois d'un épaississement ventral et obéissant dans tous les cas à un gradient antéro-postérieur.

V. — INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS. CONCLUSIONS

Quels enseignements nous apportent les résultats d'injections hormonales quant aux mécanismes de la différenciation des gonades et des territoires somatiques de l'appareil uro-génital chez la Roussette ? C'est ce que nous allons essayer de mettre en lumière dans cette discussion en résumant ce que nous ont appris ces expériences, sur la réaction de chaque territoire.

1. Segments antérieurs du rein et organes copulateurs.

Nous savons qu'en aucun cas l'administration précoce d'hormones sexuelles n'a modifié cette première étape de la différenciation sexuelle : l'arrêt du développement des premiers segments mésonéphrotiques et leur dégénérescence chez les embryons femelles, leur développement normal chez les embryons mâles. On pourrait objecter que dans les expériences rapportées les hormones introduites dans le vitellus n'ont pas agi de façon suffisamment importante pour pouvoir modifier l'organisation du territoire qui nous intéresse. Je rappellerai à ce propos que la goutte d'hormone injectée a toujours été amenée, par manipulation adéquate de l'œuf, à proximité de l'embryon. J'ai pu constater d'autre part chez un embryon de la série IV que l'hormone agit de façon rapide au niveau des territoires effecteurs : en effet, l'embryon autopsié 5 jours après l'injection d'hormones androgènes présentait déjà des signes évidents d'hypertrophie au niveau du segment distal du canal de Wolff.

Si l'on se rappelle que les premiers segments du rein évoluent de manière différente selon le sexe, bien avant toute différenciation morphologique

des gonades, il faut bien admettre que l'absence de sensibilité de ces territoires aux hormones sexuelles appuie l'hypothèse de leur différenciation autonome et de leur nature somatosexuelle.

Les organes copulateurs des nageoires pelviennes ne réagissant pas non plus à l'action des hormones sexuelles, on peut également supposer que leur différenciation est indépendante du contrôle gonadique. Certains cas d'hermaphroditisme spontané décrit chez la Roussette (Arthur, 1950) semblent pourtant montrer une corrélation entre l'état des glandes génitales et celui des organes copulateurs, ce qui tendrait à prouver que le développement ultérieur de ces organes est placé sous contrôle testiculaire.

2. Gonades.

Nous avons posé, dans la conclusion de la première partie de ce travail, la question de savoir si les gonades morphologiquement indifférenciées avant le stade 29 millimètres, l'étaient aussi du point de vue fonctionnel.

Un élément de réponse est fourni par la comparaison des résultats obtenus à la suite d'injections d'hormones gynogènes à divers stades. La gonade mâle ayant amorcé sa différenciation par la migration d'éléments germinaux dans la médulla n'est en rien modifiée par l'action hormonale (série III). Dans les cas de traitements plus précoces, au contraire, la gonade est régulièrement transformée en ovotestis, que l'hormone ait été administrée avant ou après le stade de la différenciation des segments antérieurs du mésonéphros (série I et II).

Si l'hormone gynogène, orientant la jeune gonade mâle dans le sens de la féminisation, produit des effets « orthodoxes », il est plus délicat d'interpréter les transformations apportées au niveau du même territoire par l'hormone androgène. On observe en premier lieu que les gonades des embryons traités par le propionate de testostérone ont été considérablement inhibées dans leur développement. Il est par ailleurs évident que cette action inhibitrice s'est spécifiquement exercée sur l'un des constituants de l'ébauche, celui dont les potentialités sont mâles, la médulla. Partiellement privée de ses éléments somatiques, la médulla des embryons génétiquement mâles soumis au traitement androgène l'est aussi de ses éléments germinaux qui, maintenus dans le cortex, sont amenés semble-t-il à suivre une orientation de type femelle (prophase de méiose précoce). On peut donc admettre que le propionate de testostérone perturbe le développement gonadique en inhibant la différenciation médullaire (*), ce qui aboutit à donner une structure de type femelle aux glandes génitales des embryons mâles.

(*) Par la méthode de culture d'organes embryonnaires *in vitro*, B. Salzgeber (1957) a pu montrer que certains composés chimiques toxiques inhibent électivement le développement de l'un ou l'autre des composants de la gonade. C'est ainsi par exemple que la trypaflavine inhibe la médulla alors que la colchicine inhibe le cortex.

3. Mésonéphros.

Il n'a pas été observé de modification du mésonéphros chez les embryons soumis à l'action de l'hormone femelle. D'importantes transformations de la moitié antérieure du rein ont été par contre enregistrées à la suite des traitements androgènes.

Il est intéressant tout d'abord de souligner que seule la région antérieure de ce territoire, celle qui précisément correspond à la future glande de Leydig du mâle a été stimulée. Les transformations enregistrées, absence des corpuscules de Malpighi, hyperplasie des canalicules, confèrent à cette partie du mésonéphros des caractéristiques structurales qui se rapprochent fortement de celles de la glande de Leydig. Rappelons que des transformations comparables ont été observées chez le Poulet par Maraud et Stoll (1955, 1960 *b*) et Maraud (1961) : la testostérone « amplifie le domaine sexuel du mésonéphros » et, chez les Poussins castrés, peut se substituer aux testicules dans la transformation de ce territoire en épididyme. L'action de la testostérone chez la Roussette est pourtant différente en ce sens que la stimulation est très précoce et que les transformations du rein antérieur sont réalisées d'emblée, alors même que les tubes mésonéphrotiques sont en différenciation (les corpuscules de Malpighi correspondant aux segments les plus craniens ne sont même pas ébauchés chez les embryons soumis au traitement mâle).

Particulièrement intéressante est l'étude comparée de la réactivité du mésonéphros antérieur chez les embryons mâles et femelles soumis à l'action de différentes doses d'hormone mâle. Nous avons vu que le mésonéphros antérieur des femelles réagit aux doses fortes de propionate de testostérone avec une intensité comparable à celle des mâles. Le fait est remarquable car il aboutit au maintien et à l'hyperplasie de segments (les plus antérieurs) normalement voués à la dégénérescence. L'utilisation de doses moins fortes (0,5 ; 0,1 mg.) fait apparaître des stimulations régulièrement moins importantes chez la femelle que chez le mâle. Je ne pense pas qu'on puisse expliquer ces faits par une action synergique, chez le mâle, de la glande génitale et de l'hormone injectée. Nous savons en effet que le testicule embryonnaire est très inhibé, même sous l'action d'une dose « faible » et qu'il affecte une structure femelle. J'ai donc la conviction que le mésonéphros antérieur des embryons de sexe femelle présente vis-à-vis de l'action hormonale mâle une sensibilité moins importante que le même territoire des embryons mâles.

On peut rappeler à ce propos que Burns (1942) a signalé chez l'Opossum des phénomènes motivant la même interprétation : les territoires somatiques « mâles » (canaux de Wolff, bourgeons prostatiques, tubercules génitaux) ont une réaction plus importante aux androgènes chez le mâle que chez la femelle. Inversement, les structures femelles (canaux de Müller, sinus uro-génital) réagissent davantage chez la femelle que chez le mâle à l'hormone gynogène.

Ces observations ainsi que les nôtres sont susceptibles de remettre en cause la conception classique de la neutralité sexuelle absolue des territoires somatiques.

4. Canaux de Müller.

Le premier résultat que je voudrais commenter est celui du développement complet des conduits müllériens et de leur maintien chez les embryons mâles soumis à l'action de l'œstradiol. Il permet en effet de proposer une hypothèse relative aux mécanismes de la différenciation sexuelle de ces conduits.

Si l'on se réfère à ce qui est bien connu chez l'Oiseau on peut supposer que chez la Roussette, le testicule embryonnaire est responsable de l'arrêt du développement müllérien et de la régression partielle du très court segment antérieur formé. Les mécanismes seraient identiques à ceux qui président à la régression müllérienne chez le Poulet mais sensiblement anticipés, le facteur « anti-müllérien » émanant du testicule embryonnaire interviendrait à un stade précédant largement le complet développement des canaux. On peut d'ailleurs créer expérimentalement chez le Poulet les conditions de la différenciation müllérienne propres à la Roussette (Thiebold, 1962) en greffant sur un jeune embryon indifférencié un fragment testiculaire différencié. Les canaux de Müller de l'embryon hôte régressent à partir du 9e jour de l'incubation, mais dans la majorité des cas ils n'ont pas alors atteint le cloaque.

L'interprétation que l'on peut dès lors proposer au sujet du développement et du maintien müllérien chez les embryons de Roussettes mâles soumis à l'action de l'œstradiol est la suivante : l'hormone femelle, ayant féminisé le testicule embryonnaire a supprimé le facteur normalement responsable de l'arrêt de la division de l'uretère primaire et de la régression du court segment müllérien formé. Dans ces conditions, les dispositions femelles où les canaux de Müller sont complets et ne régressent pas représenteraient, comme chez l'Oiseau, le type « asexué » (Wolff, 1950) (*).

On peut sans doute expliquer par les mêmes mécanismes, le développement et le maintien des canaux de Müller chez les embryons mâles soumis à l'action du propionate de testostérone. Il faut pourtant remarquer que dans ce dernier cas, le développement n'est pas complet puisque chez des embryons âgés, le canal de Müller communique avec le canal de Wolff au niveau du tiers postérieur du tronc et souligner que le même phénomène d'agénésie frappe les canaux de Müller chez les embryons femelles soumis au même traitement. Comme pour les gonades, je pense qu'il faut voir

(*) J.-P. Dufaure (1962) a étudié l'action de l'hormone gynogène (benzoate d'œstradiol) administrée à l'embryon de Lézard vivipare *(Zootoca vivipara)* où, comme chez la Roussette, la différenciation müllérienne mâle est incomplète. Le développement complet des canaux de Müller ne se réalise pas chez les mâles soumis au traitement femelle mais le tronçon formé est maintenu.

là le signe d'une activité tératogène de l'hormone mâle en rappelant que des phénomènes tout à fait analogues ont été décrits par Stoll (1951) chez l'embryon de Poulet ayant reçu précocement une dose suffisamment élevée d'androgène. Il est enfin intéressant de noter que dans le cas d'emploi de dose faible (0,1 mg.) les canaux de Müller ne se développent également que jusqu'à une certaine limite et sont maintenus chez les mâles alors que les phénomènes d'agénésie ne s'observent plus, sauf exception, chez les embryons femelles.

Hormone mâle comme hormone femelle utilisées à dose suffisamment importante montrent par ailleurs un effet stimulant direct sur les ébauches müllériennes. Il a pu être établi que l'intensité de la réaction est proportionnelle à la dose et qu'elle suit un gradient caudo-cranial. Tandis que les réactions à l'androgène apparaissent désordonnées (canaux contournés, proliférations de l'épithélium dans tout le segment postérieur), l'œstrogène provoque une différenciation typique, régulièrement localisée, celle des glandes nidamentaires (différenciation qui n'intervient, dans le développement normal, qu'au moment de la maturité sexuelle de la Roussette femelle). Les territoires müllériens (canaux de Müller femelles, ostiums mâles) gardent leur sensibilité vis-à-vis de l'action hormonale après le stade de la différenciation sexuelle.

En conclusion, l'action de l'hormone femelle peut être considérée comme exclusivement féminisante : elle permet le développement complet et le maintien des canaux de Müller chez le mâle. Dans un deuxième temps, les effets de l'hormone se manifestent par une puissante stimulation.

L'action de l'hormone androgène au niveau du territoire müllérien est complexe. On peut en effet distinguer des effets « favorables » : développement et maintien des canaux bien au-delà de la limite normale chez le mâle, leur stimulation dans les deux sexes. Par opposition, l'agénésie du segment distal que provoque la même hormone apparaît comme une action « défavorable », « anti-müllérienne ».

5. Canaux de Wolff.

Les canaux de Wolff se sont montrés sensibles à l'action des deux hormones sexuelles qui ont été éprouvées. Dans les deux cas, une stimulation a été observée, dont l'intensité était proportionnelle à la dose administrée et qui révélait un gradient de sensibilité antéro-postérieur, donc inverse de celui des canaux de Müller.

On remarquera que si la partie antérieure de ces canaux n'est pratiquement pas stimulée par l'hormone femelle, elle est hypertrophiée dans les mêmes conditions que les canalicules mésonéphrotiques après traitement androgène à forte dose.

Les expériences réalisées ont révélé dans la plupart des cas une sensibilité particulière de la paroi ventrale de ces canaux pouvant aboutir, dans les cas de traitements œstrogènes avant la différenciation sexuelle,

à la formation de tronçons canaliculaires surnuméraires, véritables ébauches müllériennes néoformées (*).

La sensibilité des canaux de Wolff, structures « mâles », à l'hormone œstrogène, apparaît à première vue comme la manifestation d'un effet « paradoxal ». Il convient pourtant de rappeler à ce sujet que canaux de Wolff et canaux de Müller dérivent d'une seule et même ébauche : l'uretère primaire ; on peut dès lors concevoir que ces deux canaux, ayant une origine commune soient tous deux sensibles à une même hormone.

L'étude de l'action des hormones androgène et œstrogène sur la différenciation sexuelle de la petite Roussette nous a permis de mettre en lumière les points importants que voici :

— Certains territoires somatiques, les premiers segments du mésonéphros et les organes copulateurs des nageoires pelviennes, ne montrent aucune sensibilité vis-à-vis des hormones sexuelles employées. Il y a de fortes présomptions pour que la différenciation de ces organes soit indépendante de celle des glandes génitales.

— Les hormones sexuelles exercent par contre des actions morphogènes puissantes sur les autres organes de l'appareil uro-génital.

Le benzoate d'œstradiol oriente les mâles vers une histogenèse de type femelle et stimule les canaux de Müller.

Le propionate de testostérone stimule électivement le mésonéphros antérieur, et, le transformant en glande de Leydig, exerce au niveau de ce territoire une action masculinisante. Les réactions complexes des autres territoires effecteurs peuvent s'expliquer par une action tératogène de l'hormone.

— Un même territoire somatique, le mésonéphros antérieur, montre, vis-à-vis du propionate de testostérone une sensibilité plus forte chez les embryons mâles que chez les embryons femelles.

(*) Des formations müllériennes surnuméraires, occupant la même place, dorsalement par rapport au canal principal, ont été récemment observées par Dufaure (1962) chez des embryons femelles de Lézard vivipare soumis au traitement œstrogène. Il semble pourtant que chez le Lézard ces formations surnuméraires procèdent du canal de Müller et non pas, comme chez la Roussette du canal de Wolff.

TROISIÈME PARTIE

LES RÉSULTATS DES GREFFES DE GONADES EMBRYONNAIRES

I. — INTRODUCTION

En vue d'essayer d'apporter quelques compléments à la connaissance des processus de la différenciation sexuelle chez la petite Roussette, j'ai été amené à rechercher une méthode qui permette d'entretenir le développement d'organes embryonnaires isolés. Le cœlome extra-embryonnaire d'embryon de Roussette à partir du stade 25 millimètres se trouve être un site tout à fait favorable pour une expérimentation de ce genre. Avant de décrire la technique très simple qui m'a permis d'assurer ainsi le développement de différents organes de l'embryon, je voudrais passer sommairement en revue différents travaux expérimentaux réalisés chez d'autres Vertébrés et qui ne sont pas sans rapports avec les expériences qui seront relatées dans cette troisième partie.

L'étude du développement d'organes embryonnaires séparés de l'organisme auquel ils appartiennent, placés *in vitro* ou en greffe sur un autre organisme, a contribué à résoudre maints problèmes qui se posaient à l'embryologiste. Nous ne retiendrons ici que les résultats d'expériences de ce type, en rapport avec l'organogenèse sexuelle.

Plaçant des gonades embryonnaires indifférenciées de Canard dans un milieu de culture approprié, Ét. Wolff et K. Haffen (1952) constatent que ces organes évoluent conformément à leur sexe génétique et de la même manière que chez l'embryon normal. Associant étroitement entre elles deux gonades indifférenciées, ces mêmes auteurs montrent que dans les couples hétérosexuels, la gonade de sexe génétique mâle est féminisée par le partenaire femelle, ce qui apporte la preuve de l'élaboration de substances hormonales par la gonade femelle *au moment* de sa différenciation. L'action inverse, de la gonade mâle sur la gonade femelle n'a pas été mise en évidence (Rappelons que par aucune autre méthode, injections d'hormones stéroïdes ou greffes cœlomiques de gonades embryonnaires, la différenciation gonadique femelle n'a pu être orientée dans le sens mâle chez les Oiseaux). Pourtant l'élaboration de substances hormonales par les ébauches gonadiques mâles de 5 jours a été démontrée par la nécrose

de canaux de Müller femelles de 8 jours qui leur sont associés en culture *in vitro* (J. P. Weniger, 1961).

Grâce à cette méthode de culture permettant la différenciation d'organes embryonnaires *in vitro*, le type neutre (ou asexué) d'évolution des organes somatiques du tractus génital a pu être définitivement établi chez l'Oiseau : les canaux de Müller se développent normalement s'ils ne subissent pas l'action destructrice de l'hormone élaborée par le testicule embryonnaire (Y. Lutz-Ostertag, 1954 ; J. P. Weniger, 1961), ce que des expériences de castrations (Ét. Wolff, 1949) et de greffes choriolantoïdiennes (Y. Lutz, Ostertag, 1954) avaient déjà montré. Inversement, syrinx et tubercule génital de Canard évoluent toujours suivant le type mâle s'ils ne sont pas soumis à l'influence de l'hormone femelle (Ét. Wolff, Ém. Wolff et K. Haffen, 1951 ; Ét. Wolff et Ém. Wolff, 1952 ; Ém. Wolff et Ét. Wolff, 1952) ce qu'avaient également laissé prévoir les résultats de castrations embryonnaires (Ém. Wolff, 1950).

Des interactions comparables ont été mises en évidence par des méthodes différentes, pour les gonades de Mammifères. Expérimentant chez le Rat, Macintyre (1956) greffe en position sous-capsulaire dans le rein de Rats adultes castrés des couples de gonades sexuellement différenciées, prélevées au 16e jour de la gestation sur des embryons de sexe opposé. Cette association révèle de la part des testicules une action inhibitrice sur les ovaires qui, après trois semaines de transplantation n'ont pas différencié de formations folliculaires. Macintyre décrit pour certains de ces ovaires parabiontes des différenciations tubulaires semblables à des tubes séminifères, ce que l'auteur interprète comme le résultat d'une action masculinisante. Holyoke (1956) et Beber (1957) ont confirmé ces observations par des expériences également réalisées sur des Mammifères.

L'effet inverse — arrêt de la différenciation testiculaire par l'ovaire — a été obtenu dans des transplantations où le couple hétérosexuel résulte de l'association d'un partenaire femelle sensiblement plus âgé que le partenaire mâle (embryons de Rat : ovaires de 16 jours, testicules de 13 jours : indifférenciés) (Macintyre et coll., 1959). Cette action inhibitrice est interprétée comme le résultat d'une induction d'origine corticale.

II. — DESCRIPTION DE LA TECHNIQUE

Le cœlome extra-embryonnaire de l'embryon de Roussette constitue un milieu très favorable à la reprise et à la différenciation de greffons. Les embryons hôtes mesurent de 25 à 30 millimètres ; il serait délicat d'utiliser un stade antérieur, les enveloppes vitellines étant encore trop fragiles, mais rien ne s'oppose à ce que l'opération soit pratiquée sur des sujets plus âgés.

Au stade qui a été choisi, l'embryon est enfermé dans sa coque, isolé du milieu extérieur puisque les « fentes respiratoires », aux quatre angles

de l'oothèque ne sont pas encore ouvertes. Pourtant le sujet hôte peut sans dommage être extrait de sa coque à partir de ce stade pour recevoir le greffon et poursuivre son développement dans un petit récipient de verre en forme de coupelle lui-même plongé dans un bocal d'un litre de contenance, à moitié empli d'eau de mer.

La paroi vitelline d'un embryon mesurant de 25 à 30 millimètres montre, de l'extérieur vers l'intérieur, les structures suivantes : 1) Deux couches de cellules épithéliales aplaties constituent l'ectoderme. 2) Le mésoderme comprend : *a)* une lame conjonctive externe, de structure lâche dont les noyaux et les fibres sont allongés parallèlement à la surface de la boule vitelline, *b)* deux feuillets très minces, la somatopleure et la splanchnopleure qui limitent une cavité de largeur inégale : le cœlome extra-embryonnaire. 3) L'endoderme vitellin est formé d'une seule assise de cellules cylindriques de grandes dimensions à membranes épaisses. 4) Cette lame endodermique est appliquée contre le syncytium vitellin dont le protoplasme réticulé contenant des mérocytes géants établit la transition avec le vitellus. Les vaisseaux sanguins, de section variable, courent entre le feuillet splanchnique du mésoderme et la lame endodermique qu'ils refoulent dans le cœlome extra-embryonnaire et dans le vitellus.

Le fragment d'organe à greffer est prélevé sur l'embryon donneur disséqué dans le liquide de Ringer. Ce fragment mesure en général de 1,5 à 2 millimètres de long sur 0,5 à 1 millimètre de large. On peut très facilement implanter des organes entiers plus longs, par exemple des uretères primaires prélevés sur des embryons de 20 millimètres, ou des tronçons de canaux de Müller ou de Wolff dont la longueur peut atteindre un demi-centimètre.

A l'aide d'une aiguille de verre, on pratique une courte et légère incision dans la paroi vitelline de l'embryon hôte (extrait de sa coque 24 heures auparavant) qui a été placé dans une cuve sèche à fond de paraffine. Le logement du greffon est préparé par décollement des feuillets du cœlome extra-embryonnaire au moyen d'une petite palette de verre introduite à travers cette fente. Le greffon est amené dans une cuillère à transplantation depuis le bain de liquide physiologique où il a été placé après le prélèvement jusqu'au voisinage de l'incision. Au moyen d'un crochet de verre fumé, le transplant est insinué à travers la fente et placé dans son logement. Cette dernière opération peut être suivie par transparence, ce qui permet de noter avec précision la disposition topographique du greffon, les gros vaisseaux sanguins environnants servant de repère. L'embryon porte greffe est enfin remis en élevage.

Ces opérations ont toujours été réalisées dans des conditions d'aseptie aussi rigoureuses que possible.

Pour ce qui est des greffes de fragments gonadiques dont il sera question dans l'exposé qui suit, la pièce implantée était toujours de forme rectangulaire, son grand axe correspondant à celui de l'organe *in situ*. Cette précaution avait été prise afin de permettre, après l'implantation, l'étude du greffon sur coupes transversales. Dans bien des cas, pourtant, la forme

initiale n'ayant plus été retrouvée à l'autopsie, la pièce a été débitée en coupes dont l'orientation n'était pas connue. Le même souci m'a guidé dans les greffes de fragments de gonades associés par couples où, au départ, les deux partenaires ont été serrés l'un contre l'autre selon leur grand axe.

Le tableau II donne de façon sommaire les résultats de l'ensemble des implantations que j'ai réalisées. Il fait ressortir une impressionnante

Tableau II

Organes implantés	Nombre d'implantations réalisées	Hôtes morts moins de 48 heures après l'intervention	Hôtes morts entre le 3e et le 31e jour suivant l'intervention	Hôtes sacrifiés un mois ou plus après l'intervention	Greffons utilisables	Greffons non retrouvés ou dégénérés
Gonades isolées ou en associations.	95	8	46	41	37	4
Uretères primaires. Canaux de Müller. Canaux de Wolff. Peau, mésonéphros.	104	5	61	38	31	7
Organes en association.	28	2	15	11	10	1

mortalité des embryons hôtes. Je ne pense pas toutefois que toutes les pertes doivent être attribuées aux interventions. Pour un grand nombre, elles avaient été pratiquées à une époque où je ne disposais pas encore de système de réfrigération dans la salle d'élevages. La température s'élevant parfois au-dessus de 25° C, avait été la cause de nombreuses morts aussi bien parmi les lots des embryons témoins que parmi ceux des embryons opérés. En regard de cette mortalité élevée, on remarquera le petit nombre d'individus, autopsiés un mois ou davantage après l'intervention, chez lesquels le greffon n'a pas été retrouvé.

III. — DÉVELOPPEMENT DES GONADES INDIFFÉRENCIÉES GREFFÉES ISOLÉMENT

La première série d'expériences a été réalisée dans le but d'étudier la destinée d'un fragment gonadique indifférencié (embryon donneur mesurant de 18 à 22 millimètres) implanté dans le cœlome extra-embryonnaire d'un embryon au début de sa différenciation sexuelle (embryon hôte mesurant de 25 à 30 millimètres). Le tableau III montre que les explants

se différencient en ovaires ou en testicules sans que le sexe de l'hôte n'oriente apparemment le sens de cette différenciation. Après une durée d'implantation dépassant 30 jours, 5 ovaires ont été retrouvés portés par des hôtes mâles, 3 testicules portés par des hôtes femelles : leur structure était identique à celle des implants retrouvés dans le cœlome extra-embryonnaire d'hôtes de sexe homologue, identique aussi à celle des gonades d'embryons réservés comme témoins au moment de l'opération. Cette série expérimentale a permis en outre les observations suivantes :

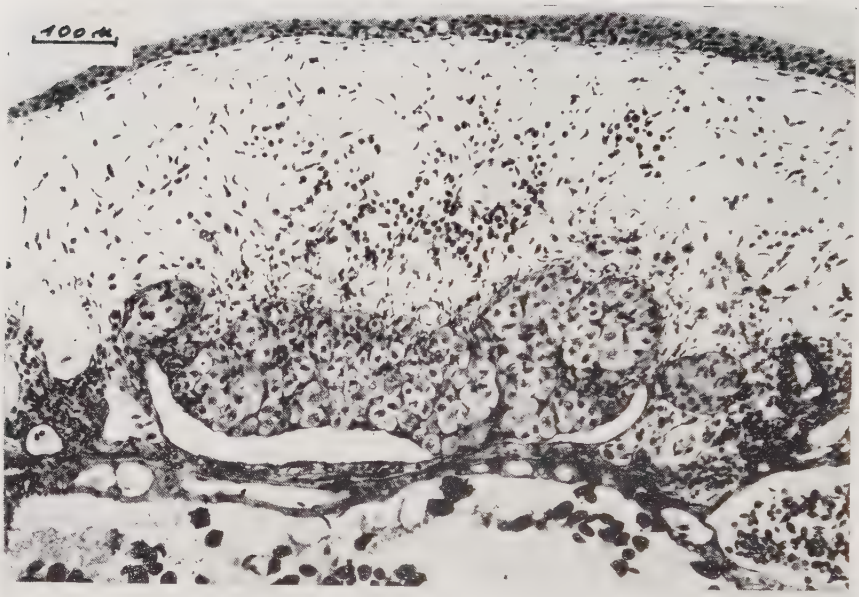
Tableau III

Sexe de l'hôte	Nombre d'implantations réalisées	Mortalité	Hôtes sacrifiés un mois ou plus après l'intervention	Greffons non retrouvés ou dégénérés	Autopsie	
					Sexe du greffon	
					Mâle	Femelle
Mâle . . .	24	15	9	2	2	5
Femelle . .	29	21	8	0	3	5

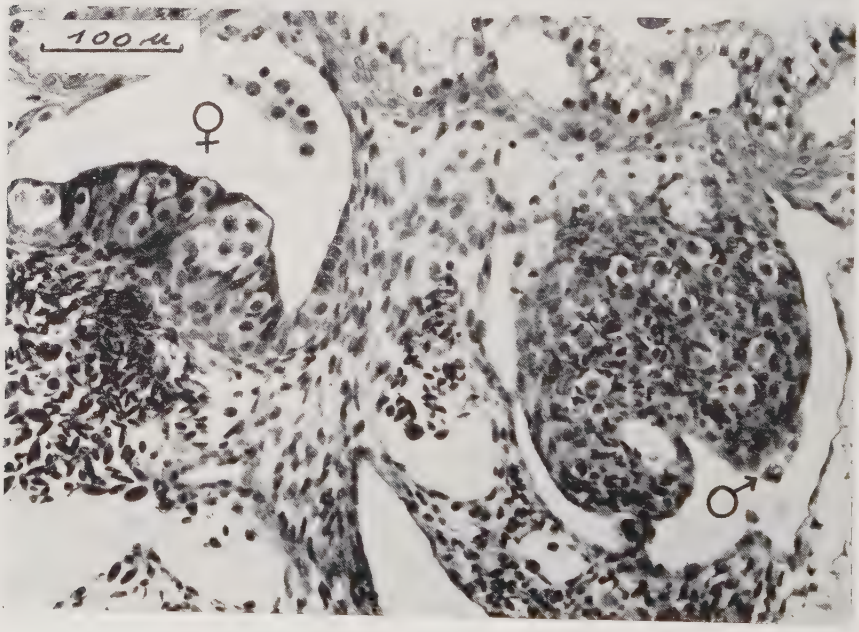
1. Implantation des greffons.

Les greffons sont le plus souvent rattachés aux tissus de l'hôte (conjonctif mésodermique) par un hile vascularisé dont on ne peut savoir s'il correspond au hile du fragment gonadique au moment de son implantation ou s'il résulte au contraire — au moins dans certains cas — de remaniements structuraux plus ou moins importants. A l'opposé de ce hile, la gonade implantée a refoulé les tissus de l'hôte dont elle est séparée par une cavité d'importance variable (fig. 61 et 62), correspondant le plus souvent au cœlome extra-embryonnaire mais qui peut aussi bien être ménagée au beau milieu de la lame conjonctive du mésoderme. Ainsi implanté, le fragment gonadique retrouve de façon très précise les dispositions d'une gonade en place, suspendue par un méso dans la cavité générale. Il peut arriver pourtant, mais c'est là l'exception (2 cas observés sur l'ensemble des greffons gonadiques des 2 séries), que le greffon gonadique soit intimement soudé aux tissus de l'hôte, sur tout son pourtour.

Cette tendance à la polarisation, avec partie hilaire soudée et partie germinale libre méritait d'être relevée : elle caractérise les tissus gonadiques. Les fragments d'organes somatiques dont j'ai pu observer le mode d'implantation étaient en effet tous noyés dans les tissus de l'hôte sans qu'aucune cavité ne les en sépare.



61



62

Fig. 61. — Gonade gauche femelle greffée avant la différenciation sexuelle. Durée de l'implantation : 57 jours.

Fig. 62. — Association hétérosexuelle de gonades greffées avant le stade de la différenciation sexuelle. Durée de l'implantation : 74 jours.

2. Différenciation histologique des greffons.

Dix structures ovariennes, cinq structures testiculaires, ainsi se sont répartis les 15 greffons étudiés histologiquement après un minimum de 30 jours d'implantation. Nous avons déjà indiqué que la différenciation dans le sens femelle ou dans le sens mâle s'était faite indépendamment du sexe de l'hôte, ce qui nous a permis de conclure qu'un greffon gonadique implanté dans les conditions décrites se différencie dans le sens que lui impose son sexe génétique. Ce premier résultat apportait une réponse à la question qui avait motivé la série expérimentale.

Il convient pourtant de donner une description plus détaillée de la structure histologique de ces greffons gonadiques dont la durée d'implantation avait atteint 90 jours pour les plus évolués. Nous verrons qu'une telle étude permet de recueillir certains enseignements relatifs à l'histogenèse gonadique chez la Roussette.

Les éléments germinaux des fragments gonadiques montrent, tant par leurs caractères cytologiques que par leurs rapports avec les tissus somatiques auxquels ils sont incorporés une analogie parfaite avec ceux des glandes génitales en place, de sexe et de stade correspondants. C'est ainsi que les cellules germinales des fragments explantés ont normalement poursuivi leur activité mitotique ; suivant le sexe, elles ont toutes migré dans la partie médullaire de l'ébauche, ou au contraire poursuivi leur développement dans l'épithélium germinatif devenu tissu cortical.

Mis à part quelques rares éléments en mitose ou en prophase de méiose les spermatogonies sont pour la plupart au stade de repos, entourées de petites cellules épithéliales. Dans les explants les plus âgés, on peut les voir groupées par petit nombre, formant les premières ébauches d'ampoules testiculaires entourées de cellules somatiques.

Une grande partie des éléments germinaux femelles, étroitement serrés les uns contre les autres dans le cortex se trouvent en prophase de méiose (stade synaptène). Les divisions oogoniales ne s'observent que très exceptionnellement. Des cellules somatiques tracent dans la masse corticale des travées perpendiculaires à la surface.

Toujours à propos des transplants femelles, notons encore que les fragments de gonades gauches, prélevés avant la différenciation sexuelle se sont développés avec la même importance que les fragments de gonades droites (2 cas observés dans cette série), 3 autres dans la série suivante où les fragments gonadiques avaient été greffés par couples) (fig. 61). Cette observation ne manque pas d'intérêt si l'on se souvient, comme il a été indiqué dans la première partie de ce travail, que les ébauches gonadiques femelles évoluent asymétriquement à partir du stade de la différenciation sexuelle, la gonade droite se développant préférentiellement à la gonade gauche appelée à disparaître complètement. J'ai indiqué en quoi cette atrophie de la gonade gauche femelle chez la Roussette diffère de l'atrophie de la gonade droite femelle chez les Oiseaux. Il avait

été émis une hypothèse selon laquelle cette évolution dissymétrique chez certains Squales serait en rapport avec l'encombrement de la cavité viscérale (Bruch, 1860, cité par Borcea, 1905), encombrement qui serait tel que seul un ovaire y trouverait la place nécessaire à son développement. Notre observation d'un important accroissement en volume de l'ébauche gauche placée en greffe, tend à montrer que son arrêt de croissance *in situ* n'est vraisemblablement pas lié à sa nature. Elle soutient, sans la vérifier bien sûr, l'hypothèse de Bruch.

Un dernier caractère histologique de ces greffons gonadiques a retenu mon attention. Il s'agit de la présence, chez la plupart de ceux qui ont atteint un certain développement, de masses plus ou moins importantes de tissu lympho-myéloïde à la périphérie de la partie proprement germinale des greffons (fig. 64).

On sait que chez les Vertébrés inférieurs, des amas lymphoïdes sont répartis dans des organes très divers qui sont, selon toute vraisemblance, autant d'organes hématopoïétiques. Chez l'embryon de Roussette, en particulier, l'œsophage, la valvule spirale du tube digestif, le foie, le mésonéphros, les glandes génitales se montrent, à un certain stade du développement envahis par ce tissu.

Chieffi (1950) a donné certaines indications quant à l'origine des éléments lympho-myéloïdes de la gonade : selon cet auteur ils proviennent des espaces intertubulaires du mésonéphros voisin et vont envahir, à partir du stade 50 millimètres, la médulla des gonades mâles et femelles en cheminant à travers le mésentère dorsal.

Si la colonisation se fait effectivement de cette manière et s'il est vrai que ces éléments ne préexistent pas dans la jeune ébauche gonadique on peut imaginer qu'ils ont été transportés jusqu'à nos greffons par voie sanguine. Dans cette hypothèse, les gonades embryonnaires montreraient une intense affinité vis-à-vis de ces éléments lymphoïdes qu'elles réussissent à attirer jusqu'à elles et à retenir dans l'intimité de leurs tissus ou à leur voisinage.

IV. — DÉVELOPPEMENT DE GONADES GREFFÉES PAR COUPLES

La première série d'expériences ayant montré que la méthode mise en œuvre permettait la reprise et la différenciation sexuelle normale d'ébauches gonadiques, il m'a semblé intéressant de tester d'éventuelles interactions au niveau de greffons implantés par couples.

Le tableau IV rend compte sommairement des deux séries d'expériences réalisées dans ce sens. Dans la première série ont été associés en greffe des fragments gonadiques prélevés sur des embryons indifférenciés mesurant de 18 à 22 millimètres. Dans ces conditions, les chances de réaliser une combinaison hétérosexuelle sont de 50 0/0. Dans la deuxième série, j'ai greffé côte à côte des fragments de gonades provenant d'embryons diffé-

renciés dont les tailles variaient entre 35 et 45 millimètres. Dans ce dernier cas, on peut à volonté réaliser des combinaisons où les greffons sont du même sexe ou de sexe différent. On remarquera que la mortalité s'est révélée sensiblement plus faible dans cette dernière série expérimentale. Le fait est lié aux meilleures conditions d'élevages des hôtes après l'opération, la température de la salle où ils étaient entreposés ayant pu être maintenue en deçà de 18° C. Il ne m'a pas été permis de réaliser des associations où l'un des partenaires aurait été différencié, l'autre indifférencié, faute d'avoir pu disposer simultanément d'embryons à des stades suffisamment différents.

Tableau IV

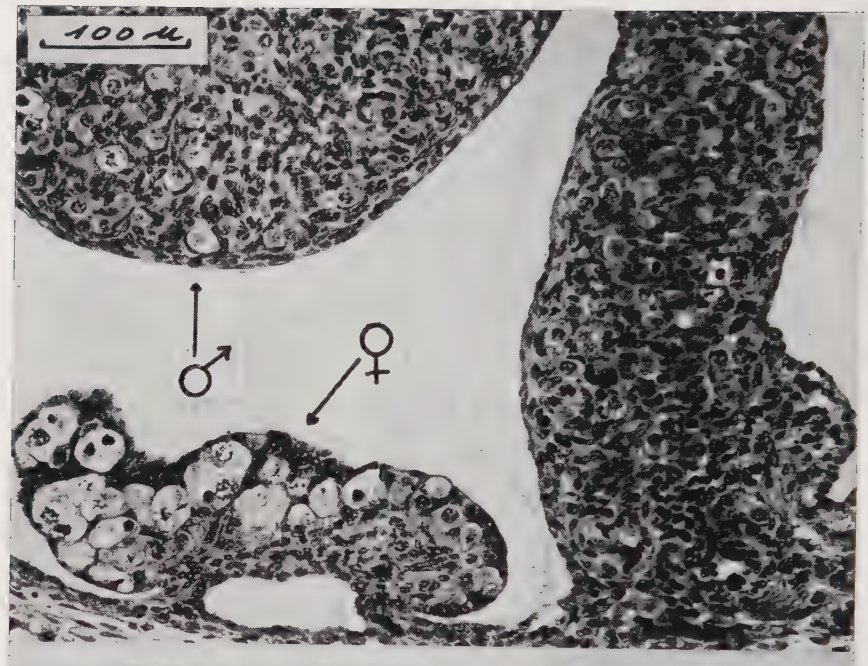
	Nombre de greffes doubles réalisées	Mortalité	Hôtes sacrifiés un mois ou plus après l'intervention	Greffons non retrouvés ou dégénérés	Combinaisons mixtes	Combinaisons mâles	Combinaisons femelles
Gonades indifférenciées .	27	14	13	2	5	4	2
Gonades différenciées . .	15	4	11	0	3	2	4

1. Combinaisons hétéro-sexuelles.

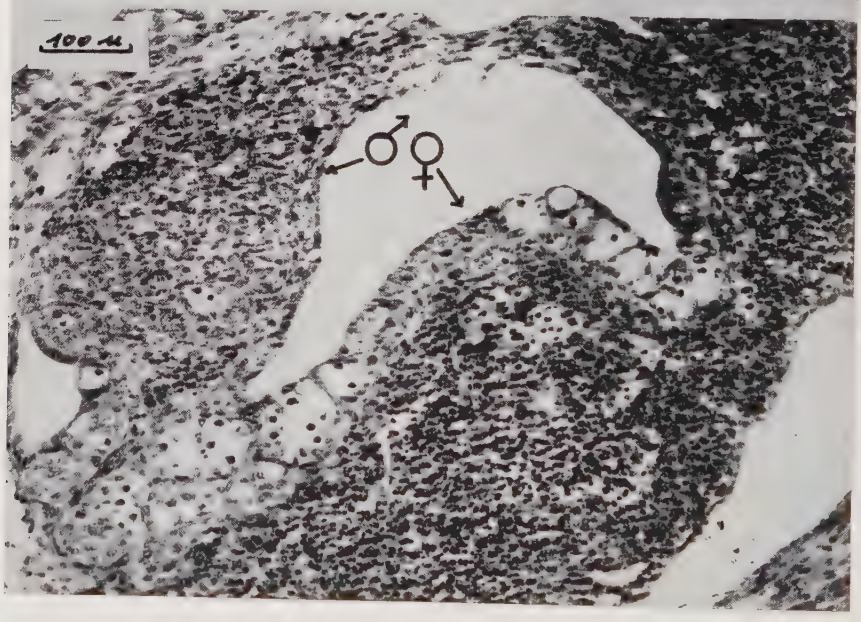
Le mode d'implantation pour les fragments gonadiques implantés par couples est le même que celui décrit à propos des fragments greffés isolément. On retrouve dans la plupart des cas la gonade rattachée par une partie hilaire, la partie germinale étant séparée des tissus de l'hôte par une cavité. Souvent les deux greffons sont soudés l'un à l'autre sur une étendue plus ou moins importante, ils peuvent aussi être séparés par une lame conjonctive. Quels que soient les rapports établis entre les deux fragments gonadiques il ne m'a jamais été permis de déceler le moindre indice d'interaction dans leur structure. Dans les associations hétéro-sexuelles, qu'elles aient été réalisées au stade indifférencié ou différencié, chaque partenaire montre la structure caractéristique de son sexe telle que nous l'avons décrite à propos des gonades *in situ* ou de celles qui avaient été implantées isolément (fig. 62, 63 et 64).

2. Associations de gonades de même sexe.

Signalons simplement que dans ce type d'association, les deux partenaires peuvent également se souder intimement entre eux. Leur structure est parfaitement normale, identique, comme dans le cas précédent, à celle de fragments gonadiques de même sexe greffés isolément.



63



64

Fig. 63. — Association hétérosexuelle de deux gonades gauches greffées avant le stade de la différenciation sexuelle. Durée de l'implantation : 85 jours.

Fig. 64. — Association hétérosexuelle de deux gonades droites greffées avant le stade de la différenciation sexuelle. Durée de l'implantation : 92 jours.

J'ai pu enfin me rendre compte que dans les associations gonade gauche femelle-gonade droite femelle les deux transplants acquièrent une importance sensiblement équivalente. Les trois cas observés concernaient des gonades greffées après la différenciation sexuelle, c'est-à-dire à un stade où chez la femelle, la dissymétrie est déjà très sensible. Cette observation tend donc à montrer que l'atrophie qui frappe l'ovaire gauche chez l'embryon de Roussette n'est pas un caractère irrévocable. On peut également en conclure que l'involution n'est pas liée à une action inhibitrice de l'ébauche controlatérale.

V. — CONCLUSIONS

Les expériences de greffes dans le cœlome extra-embryonnaire ont permis d'enregistrer les résultats suivants :

1° La différenciation sexuelle d'un fragment gonadique isolé se fait conformément à son sexe génétique. C'est ce qu'ont montré des expériences où ont été greffées isolément des gonades indifférenciées sur des hôtes au début de leur différenciation.

Il convient pourtant de rappeler à propos de cette série expérimentale que si les greffons implantés étaient effectivement indifférenciés du point de vue morphologique, ils provenaient d'embryons dont la taille variait entre 18 et 22 millimètres, et qui en conséquence, par un caractère somatique, le rein antérieur, étaient déjà orientés sexuellement. Rappelons à ce propos certains résultats exposés en seconde partie de ce travail (série II) : les gonades d'embryons mâles réagissent de la même manière à l'hormone œstrogène, que le traitement ait été administré à partir du stade 8-10 millimètres ou du stade 22-24 millimètres. Nous avons indiqué qu'on peut voir dans cette réceptivité le signe de l'état indifférencié des gonades aux stades précédant celui de leur différenciation morphologique (29-30 millimètres). Par ailleurs, je ne pense pas qu'il soit possible de greffer seules des gonades provenant d'embryons plus jeunes que ceux que j'ai utilisés : l'implant serait alors trop ténu et les chances de reprises seraient fortement compromises.

Cette réserve étant faite on peut admettre que le milieu n'influence en rien l'orientation sexuelle d'une gonade indifférenciée. Un fragment gonadique dont le sexe génétique est mâle évolue en testicule même dans les cas où il est porté par un hôte femelle et réciproquement. A ce point de vue, le site qui a été choisi pour les implantations, le cœlome extra-embryonnaire, ressemble au chorion-allantoïde de l'embryon de Poulet. Par divers travaux (Greenwood, 1925 ; Dennis, 1936 ; Y. Lutz-Ostertag, 1954) il a pu être montré que des ébauches sexuelles implantées avant leur différenciation, en greffe chorio-allantoïdienne chez le Poulet n'étaient en rien influencées par l'hôte. Il en a été conclu que le chorion-allantoïde est « sexuellement anhormonal ». La même qualité peut être

attribuée au cœlome extra-embryonnaire de la Roussette à la suite de nos expériences.

2° Des masses plus ou moins importantes de tissu lympho-myéloïde ont été découvertes dans l'intimité des tissus ou au voisinage immédiat des implants gonadiques suffisamment évolués. Je ne suis pas en mesure de préciser l'origine de ces éléments mais il est à supposer que la gonade implantée ait joué à leur égard un rôle d'attraction et de rétention.

3° Greffées isolément ou en association, les gonades droites femelles acquièrent un volume important et sensiblement équivalent à celui des gonades gauches femelles, développées dans les mêmes conditions. Ces résultats suggèrent à la fois que l'atrophie gonadique gauche n'est pas un caractère propre à l'ébauche et qu'elle ne peut être attribuée à une action inhibitrice de la gonade droite. L'hypothèse de Bruch (1860) faisant intervenir l'idée d'une « compétition spatiale » pour expliquer le développement asymétrique des ébauches ovariennes se trouve en accord avec nos observations.

4° Deux fragments gonadiques indifférenciés, greffés simultanément, côte à côte, évoluent de la même manière que les greffons isolés. Ils peuvent se souder intimement entre eux mais dans aucune des combinaisons hétérosexuelles ainsi réalisées, il n'a été constaté, au niveau de l'un des partenaires, des modifications de structure qui puissent être attribuées à une induction de la part de l'autre.

La même observation peut être faite dans les cas d'associations hétérosexuelles réalisées à partir de gonades ayant franchi le cap de la différenciation sexuelle morphologique.

Cette absence d'interaction peut paraître curieuse si l'on se rapporte à des expériences comparables réalisées chez d'autres Vertébrés (« Expériences naturelles » de Free-Martins chez les Mammifères (Keller et Tandler, 1916 ; Lillie, 1916, 1917) et les Oiseaux (Lutz et Lutz-Ostertag, 1959 ; Ruch, 1962), Free-Martins expérimentaux chez les Batraciens (Burns, 1925 ; Witschi, 1927 ; Humphrey, 1936), association de gonades chez les Oiseaux (Wolff et Haffen, 1952) et les Mammifères (Macintyre, 1956 ; Macintyre et coll., 1959) où l'une des gonades parabiontes montre toujours un caractère de dominance vis-à-vis de l'autre, du sexe opposé. Cette dominance se traduit alors par des phénomènes d'intersexualité ou de dégénérescence, observables chez le parabionte dominé.

Il est bien évident que le problème des interactions dans les couples gonadiques hétérosexuels ne saurait être considéré comme résolu par les expériences que nous avons réalisées. Des associations de fragments gonadiques d'âges différents, où l'un des partenaires serait différencié, l'autre indifférencié restent à faire. Elles montreront peut-être des phénomènes d'induction sexuelle qui illustreraient, comme chez les Batraciens et les Amniotes, les antagonismes du couple cortico-médullaire gonadique. La féminisation des gonades mâles par l'hormone œstrogène administrée précocement (cf. IIe Partie) permet d'entrevoir la possibilité de telles interactions.

RÉSUMÉ

I. — La première partie du travail est consacrée à l'étude des principales étapes de l'organogenèse uro-génitale normale chez la Roussette : La chronologie des différents événements qui aboutissent à la différenciation de l'appareil uro-génital est présentée sous forme de tableau (p. 294).

Il est remarquable d'observer que la première différenciation qui permette la distinction des sexes, est celle d'un caractère somatique et qu'elle précède de loin la différenciation sexuelle des glandes génitales. Chez l'embryon mesurant 17-20 millimètres, le mésonéphros atteint le stade « néphridioïde » auquel cœlome et uretère primaire sont mis en communication par un canal segmentaire complet. Chez les embryons de sexe mâle, chaque segment du tronc, en arrière de l'ouverture péritonéale de l'uretère primaire jusqu'au cloaque, produit un canal segmentaire. Chez les embryons femelles, les 5-7 premiers canaux segmentaires sont incomplets ; les rudiments formés sont voués à la dégénérescence.

Une autre particularité remarquable de la différenciation sexuelle de la Roussette est le développement très incomplet des conduits müllériens chez les mâles. Dans les deux sexes la division longitudinale de l'uretère primaire commence au stade 27 millimètres, soit légèrement avant le premier indice de différenciation morphologique des gonades. Chez la femelle les processus de division se poursuivent régulièrement de l'avant vers l'arrière jusqu'au niveau du cloaque. Le canal ventral ainsi formé (canal de Müller) a d'emblée le même diamètre que le canal dorsal (canal de Wolff) et ne tarde pas à subir un développement plus important. Chez le mâle le canal de Müller ne se forme qu'à partir d'une région plus restreinte de l'uretère primaire de sorte que dès sa formation son diamètre est inférieur à celui du canal de Wolff. En outre, cette division inégale de l'uretère primaire ne se poursuit pas, en règle générale, au-delà du niveau du cinquième segment mésonéphrotique. Après cet arrêt du développement, la partie distale du court segment müllérien formé est détruite.

L'orientation sexuelle précédant la différenciation morphologique des gonades ainsi que l'inégal développement des ébauches müllériennes dans les deux sexes sont sans doute les particularités les plus remarquables de l'organogenèse uro-génitale de la Roussette. De nombreux autres points ont été précisés notamment en ce qui concerne l'organogenèse gonadique et les rapports entre pro- et mésonéphros.

II. — Dans la seconde partie du travail, nous avons étudié la sensibilité des différents territoires de l'appareil uro-génital de la Roussette vis-à-vis des hormones sexuelles de synthèse, le benzoate d'œstradiol et le propionate de testostérone. Ces substances ont été injectées à différentes doses dans le vitellus d'embryons à des stades différents.

L'hormone gynogène

— Oriente les gonades des embryons génétiquement mâles vers une morphogenèse de type femelle, avec maintien d'un cortex contenant la majorité des éléments germinaux.

— Permet le développement complet et le maintien des canaux de Müller chez les embryons mâles.

— Stimule le développement des ébauches müllériennes chez les embryons des deux sexes quand elle est utilisée à forte dose. La région correspondant à l'emplacement de la future glande nidamentaire est particulièrement stimulée.

— Entraîne une dilatation des canaux de Wolff particulièrement importante dans leur segment distal.

— Provoque, dans la région moyenne du tronc, des épaississements de l'épithélium wolffien ventral pouvant aboutir par prolifération à la formation de véritables tronçons « müllériens » surnuméraires.

L'hormone androgène

— Inhibe fortement le développement des glandes génitales. Cette inhibition s'exerçant électivement sur la partie médullaire des ébauches aboutit chez les mâles à une morphogenèse de type ovarien.

— Employée à la dose de 1 milligramme inhibe la division longitudinale de l'uretère primaire à un certain niveau, ce qui aboutit à une agénésie du segment distal des canaux de Müller chez les femelles.

— Permet le développement et le maintien d'un tronçon beaucoup plus étendu que dans l'organogenèse normale des ébauches müllériennes chez les embryons mâles.

— Stimule les canaux de Müller quand elle est administrée à forte dose.

— Provoque l'hypertrophie des canaux de Wolff et la dilatation du segment distal, resté indivis, de l'uretère primaire.

— Stimule puissamment les segments antérieurs du mésonéphros. Cette partie du rein se trouve orientée, à la suite d'administration de dose forte, vers une morphologie de glande de Leydig. L'utilisation de doses faibles fait apparaître une sensibilité plus importante de ce même territoire chez les embryons mâles que chez les embryons femelles.

Il ressort de l'ensemble des expériences réalisées, que deux territoires sexuels somatiques, les premiers segments du mésonéphros et les organes copulateurs des nageoires pelviennes ne montrent aucune sensibilité vis-à-vis des hormones sexuelles employées. Cette observation donne à penser que la différenciation de ces organes se fait indépendamment de celle des glandes génitales.

III. — La méthode décrite dans la troisième partie du travail consiste à prélever un organe ou fragment d'organe sur un embryon donneur et à

l'implanter dans le cœlome extra-embryonnaire d'un embryon hôte. Cette technique, qui a permis la survie et la différenciation de différents organes embryonnaires, doit permettre d'aborder de multiples problèmes d'organogenèse chez la Roussette. Seuls les premiers résultats acquis à la suite de greffes de fragments de gonades sont relatés dans ce travail.

Des fragments gonadiques implantés avant leur différenciation évoluent en ovaires ou en testicules selon leur sexe génétique et quel que soit le sexe de l'embryon hôte.

Les greffons gonadiques montrent généralement les dispositions d'une gonade *in situ* avec partie hilaire rattachée aux tissus de l'hôte et partie germinale baignant dans une cavité.

Des éléments lympho-myéloïdes envahissent les greffons gonadiques à partir d'un certain stade de leur développement, comme ils le font dans l'organogenèse normale.

La gonade gauche femelle, greffée isolément ou en association, présente un développement dont l'importance est comparable à celle de la gonade droite.

Deux gonades de même âge, différenciées ou non, mais de sexes opposés, évoluent normalement si elles sont greffées simultanément et côte à côte. Elles peuvent contracter entre elles des rapports histologiques mais en aucun cas il n'a pu être décelé d'interaction entre les partenaires de ces couples hétérosexuels.

Ces résultats sont confrontés avec ceux qui ont été enregistrés par des méthodes comparables dans d'autres Classes de Vertébrés.

BIBLIOGRAPHIE

I. — *Ouvrages généraux traitant de la différenciation sexuelle et de l'intersexualité.*

Colloque sur la différenciation sexuelle chez les Vertébrés. Rapports et discussions. Paris, juin 1950. Masson et Cie, éd., 1951 et *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **39**, 1950, 183-644.

Gallien, L. — 1958. — *Problèmes et concepts de l'embryologie expérimentale*, Gallimard. Paris.

Ponse (K.). — 1949. — *La différenciation du sexe et l'intersexualité chez les Vertébrés.* F. Rouge, Lausanne.

Sex differenciation and development. Symposium, avril 1958. University Press, 1960, Cambridge.

Voss (H. E.). — 1962. — Intersexualität bei Wirbetieren. *Arzn. Forsch.* (Drug. res.), **12**, 240-244.

Witschi (E.). — 1956. — *Development of Vertebrates.* Saunders, éd., Philadelphie.

Wolff (Ét.). — 1946. — *Les changements de sexe.* Gallimard, Paris.

Zuckerman (S. S.). — 1962. — *The Ovary.* 2 Vol. Academic Press, New York, London.

II. — *Travaux cités.*

Arthur (D. R.). — 1950. — Abnormalities in the sexual apparatus of the common dog-fish *(Scyliorhinus caniculus). Proc. Linn. Soc.*, London, **162**, 52-56.

Balfour (F. M.). — 1878. — *A monograf on the development of Elasmobranch fishes.* London, MacMillan.

Beber (B. A.). — 1957. — The differenciation of mammalian ovaries and testes grown together *in vitro*. *Anat. Rec.*, **127**, 263.

Benoit (J.). — 1950. — Différenciation sexuelle chez les Oiseaux au cours du développement normal et de l'intersexualité expérimentale par ovariectomie. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **39**, 213, 232.

Borcea (I.). — 1905. — Recherches sur le système uro-génital des Élasmobranches. *Arch. Zool. exp. gen.*, **4**, 199-484.

Bruch (E.). — 1860. — *Études sur l'appareil de la génération chez les Sélaciens.* Thèse, Strasbourg.

Burns (R. K.). — 1925. — The sex of parabiotic twins in Amphibia. *J. exp. Zool.*, **42**, 31-90.

Burns (R. K.) Jr. — 1938. — The effects of cristalline sex hormones on sex differentiation in Amblystoma. I. Estrone. *Anat. Rec.*, **71**, 447-467.

Burns (R. K.). — 1942. — Hormones and experimental modification of sex in the opossum. *Biol. Symp.*, **9**, 125-145. — 1950. — Sex transformation in the opossum : some new results and a retrospect. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **39**, 467-483. — 1955. — Experimental reversal of sex in the gonads of the opossum *Didelphys virginiana*. *J. nat. Acad. Sci.*, **41**, 669-676.

Cambar (R.) et Dechambre (C.). — 1958. — Le matériel cellulaire néphrostomial du pronéphros ne participe pas à l'édification du pavillon génital femelle (ostium) ; observations chez la Grenouille agile *(Rana dalmatina)*. *C. R. Acad. Sci.*, **246**, 174-176.

Chieffi (G.). — 1949. — Ricerche sul differenziamento dei sessi negli embrioni di Torpedo ocellata. *Publ. Staz. Zool. Napoli*, **22**, 57-77. — 1950. — Il differenziamento dei essi nei Selaci. *Experientia*, **12**, 465-471. — 1951. — Sulla organogenesi della medulla della gonade in *Torpedo ocellata* e in *Scyliorhinus canicula*. *Bolletino di Zoologica*, **18**, 183-187. — 1959. — Sex differenciation and experimental sex reversal in Elasmobranch fishes. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **48** *bis*, 21-36.

Dantchakoff (V.). — 1935. — Sur l'inversion expérimentale de l'ébauche testiculaire, chez l'embryon de Poulet. *C. R. Acad. Sci.*, **200**, 1983-1985. — 1936. — L'hormone mâle adulte dans l'histogenèse du Mammifère. *C. R. Soc. Biol.*, **123**, 873-876. — 1937. — Sur l'action de l'hormone sexuelle chez les Reptiles. *C. R. Acad. Sci.*, **205**, 424-426. — 1938. — La folliculine dans l'histogenèse sexuelle des embryons de Mammifères. *C. R. Acad. Sci.*, **207**, 1450-1452.

Dennis (E. A.). — 1936. — Gonad differenciation in the chick embryo as studied in heterosexual graft and host graft combination. *Physiol. Zool.*, **9**, 204-230.

Dufaure (J. P.). — 1961. — Le développement de l'appareil génital du Lézard vivipare. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **50**, 69-90. — 1962. — Action du benzoate d'œstradiol sur les conduits uro-génitaux de l'embryon de Lézard vivipare (*Lacerta vivipara* Jacquin). *C. R. Acad. Sci.*, **254**, 3262-3263.

Forbes (T. R.). — 1938 *(a)*. — Studies on the reproductive system of the alligator. III. The action of testosterone on the accessory sex structures of recently hatched female alligators. *Anat. Rec.*, **72**, 87-95. — 1938 *(b)*. — Studies on the reproductive system of the alligator. II. The effects of prolonged injections of œstrone in the immature alligator. *J. exp. Zool.*, **78**, 335-367. — 1939. — Studies on the reproductive system of the alligator. V. The effects of the injection of testosterone propionate in immature alligator. *Anat. Rec.*, **75**, 51-57.

Gallien (L.). — 1937. — Action masculinisante du propionate de testostérone dans la différenciation du sexe chez *Rana temporaria* L. *C. R. Acad. Sci.*, **205**, 375-377. — 1944 *(a)*. — Recherches expérimentales sur l'organogenèse sexuelle chez les Batraciens anoures. *Bull. Biol. France et Belgique*, **78**, 257-359. — 1950. — Inversion du sexe et effet paradoxal (féminisation) chez l'urodèle Pleurodeles Watlii Michah, traité par le propionate de testostérone. *C. R. Acad. Sci.*, **231**, 1092-1094. — 1959. — Analyse des effets des hormones stéroïdes dans la différenciation sexuelle des Amphibiens. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **48** *bis*, 83-100.

Greenwood (A. W.). — 1925. — Gonad grafts in embryonic chicks and their relation to sexual differenciation. *Brit. J. exp. Zool.*, **2**, 165-187.

Gruenwald (P.). — 1941. — The relation of the growing Müllerian duct to the Wolffian duct and its importance for the genesis of malformations. *Anat. Rec.*, **81**, 1-19.

Holyoke (E. A.). — 1956. — The differenciation of embryonic ovaries and testes grafted together on adults hists in the rabbit. *Anat. Rec.*, **124**, 307.

HUMPHREY (R. R.). — 1936. — Studies on sex reversal in *Amblystoma*. IX. Reversal of ovaries to testes in parabiotic *A. tigrinum*. *J. exp. Zool.*, **73**, 1-21.

JOST (A.). — 1947. — Recherches sur la différenciation sexuelle de l'embryon de lapin. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **36**, 151-200 ; 242-315.

JOST (A.), CHODKIEWICZ (M.) et MAULÉON (P.). — 1963. — Intersexualité du fœtus de veau produite par des androgènes. Comparaison entre l'hormone fœtale responsable du free-martinisme et l'hormone testiculaire adulte. *C. R. Acad. Sci.*, **256**, 274-276.

KELLER (K.) et TAUDLER (J.). — 1916. — Ueber das Verhalten der Eihaüte bei der Zwillingsträchtigkeit des Rindes. *Mschr. Ver. Tierarz. Ost.*, **3**, 513-526.

LEROY (F.). — 1956. — Développement et différenciation des canaux de Müller chez un Lacertilien : *Chamaelon bitæmiatus*. *Arch. Biol. Fr.*, **67**, 657-683.

LILLIE (F. R.). — 1916. — The theory of the freemartin. *Science*, **43**, 611-613. — 1917. — The freemartin = a study on the action of sex hormones in the fœtal life of cattle. *J. exp. Zool.*, **23**, 371-452.

LUTZ (H.) et LUTZ-OSTERTAG (Y.). — 1959. — Free-martinisme spontané chez les Oiseaux. *Dev. Biol.*, **4**, 364-376.

LUTZ-OSTERTAG (Y.). — 1954. — Contribution à l'étude du développement et de la régression des canaux de Müller chez l'embryon d'Oiseau. *Bull. Biol. Fr. Belg.*, **88**, 333-412.

MACINTYRE (M. N.). — 1956. — Effect of the testis on ovarian differenciation in heterosexual embryonic Rat gonad transplants. *Anat. Anat. Rec.*, **124**, 27-45. — 1959. — Effect of the ovary on testicular differenciation in heterosexual embryonic rat gonad transplants. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **48** *bis*, 141-153.

MARAUD (R.). — 1961. — *Recherches expérimentales sur les facteurs inducteurs de la formation de l'épididyme du coq (Gallus gallus)*. Thèse, Bordeaux.

MARAUD (R.) et STOLL (R.). — 1955. — Action de la testostérone sur la constitution de l'épididyme du Coq. *C. R. Soc. Biol.*, **149**, 704-707. — 1958. — Sur le rôle inducteur du testicule dans la morphogenèse épididymaire chez les Vertébrés. Résultats de la castration. *C. R. Soc. Biol.*, **152**, 346-350. — 1960 *(a)*. — Sur le rôle inducteur du testicule dans la morphologie épididymaire des Vertébrés amniotes. Résultats de la castration unilatérale. *C. R. Soc. Biol.*, **154**, 1798-1801. — 1960 *(b)*. — Sur le rôle inducteur du testicule dans la morphogenèse épididymaire chez les Vertébrés. Action vicariante de la testostérone chez les sujets castrés. *C. R. Soc. Biol.*, **154**, 2056-2059.

RABL (C.). — 1896. — Ueber die Entwicklung des Urogenitalsystems der Selachier. *Morph. Jahrb.*, **24**, 632-767.

RAYNAUD (A.). — 1942. — Modification de la différenciation sexuelle des embryons de souris par action des hormones androgènes et œstrogènes. *Act. sci. Industr.*, n° 925 et 926, Paris, Hermann, éd.

RUCH (J. V.). — 1962. — Contribution à l'étude des modifications du système génital des embryons issus d'œufs doubles de poule *(Gallus domesticus)*. *Arch. Anat. Hist. Embr.*, **45**, 61-129.

RUCKERT (J.). — 1888. — Ueber die Entstehung der Exkretionsorgane bei Selachiern. *Arch. Anat. Physiol.*, Anatom. Abteilung. — 1887. — Zur Entwicklung des Exkretionssystems der Selachier. *Zool. Anz.*, **7**. — 1892. — Entwicklung der Exkretionsorgane. *Anat. Hefte*, 2 Abth. Ergebnisse der Anat. W. Entw.

SCHEIB-PFLEGER (D.). — 1956. — Contribution biochimique à l'étude des processus de la différenciation des canaux de Müller chez le Poulet, *Gallus gallus* (Aves). *Bull. Biol. Fr. Belg.*, **89**, 404-490.

SEDGWICK (A.). — 1881. — On the early development of the anterior part of the wolffian body and duct in the chick together with some remarks on the excretory system of vertebrate. *Quart. Journ. Micr. Sci.*, **21**, 432-468.

SEMPER (C.). — 1874. — Segmentalorgane bei ausgewachsenen Haien. *Centralbl. med. Wiss.* — 1875. — Das Urogenitalsystem der Plagiostomen und seine Bedeutung für das der übrigen Wirbeltieren. *Arb. Zool. Zool. Inst. Wurzburg*, **2**, 195-509.

STEFAN (Y.). — 1958. — Étude préliminaire de l'action de quelques œstrogènes sur le tractus génital de la jeune Tortue d'eau *Emys leprosa* S. *Ann. endocr.*, **19**, 481-506. — 1963. — Contribution à l'étude expérimentale de l'intersexualité chez un Chélonien : *Emys leprosa* S. Thèse, Strasbourg 1962, *Bull. Biol. Fr. Belge. (à l'impression)*.

STOLL (R.). — 1948. — Action de quelques hormones sexuelles sur le développement des canaux de Müller de l'embryon de Poulet. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*,

37, 118-135. — 1951 — Sur la différenciation sexuelle de l'embryon de Poulet. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **39**, 415-425.

Stoll (R.) et Maraud (R.). — 1955. — Sur la morphogenèse de l'épididyme du Coq. *C. R. Soc. Biol.*, **149**, 1265-1268.

Thiebold (J. J.). — 1952 *(a)*. — Action du propionate de testostérone sur la différenciation sexuelle des embryons de *Scylliorhinus canicula* C. *C. R. Acad. Sci.*, **235**, 1551-1553. — 1952 *(b)*. — Observations préliminaires concernant la différenciation des gonades et du tractus génital chez les embryons de *Scylliorhinus canicula* C., traités par le propionate de testostérone. *C. R. Soc. Biol.*, **147**, 480-483. — 1952 *(c)*. — Observations concernant l'évolution de l'uretère primaire chez les embryons de la Roussette, *Scylliorhinus canicula* C. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **77**, 470-475. — 1953. — Action du benzoate d'œstradiol sur la différenciation sexuelle des embryons de *Scylliorhinus canicula* C. *C. R. Acad. Sci.*, **236**, 2174-2175. — 1954. — Étude préliminaire de l'action des hormones sexuelles sur la morphogenèse des voies génitales chez *Scylliorhinus canicula* C. *Bull. Biol. Fr. Belg.*, **88**, 130-145. — 1955. — Action de l'anhydrooxyprogestérone sur la morphogenèse sexuelle des *Scylliorhinus canicula* L. *C. R. Soc. Biol.*, **149**, 1036-1037.

Vivien (J. H.). — 1959. — Réactivité particulière du cortex gonadique et de l'épithélium du canal de Müller à l'action des hormones sexuelles chez le jeune mâle d'*Emys leprosa* S., traité après l'éclosion. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **48** *bis*, 297-311.

Van Wyhe (J. W.). — 1889. — Ueber die Mesodermsegmente des Rumpfes und die Entwicklung des Exkretionssystems bei Selachiern. *Arch. mikr. Anat.*, **33**, 461-516.

Weniger (J. P.). — 1961. — Activité hormonale des gonades morphologiquement indifférenciées de l'embryon de Poulet. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **50**, 269-288.

Willier (B. H.), Gallacher (I. F.) et Koch (F. C.). — 1935. — Sex modification in the chick embryo resulting from injection of male and female hormones. *Proc. nat. Acad. Sci.*, **21**, 625-631.

Witschi (E.). — 1927. — Sex reversal in parabiotic twins of the american wood frog. *Biol. Bull.*, **52**, 137-146.

Wolff (Ém.). — 1950. — La différenciation sexuelle normale et le conditionnement hormonal des caractères sexuels somatiques précoces, tubercule génital et syrinx, chez l'embryon de Canard. *Bull. Biol. Fr. Belg.*, **84**, 121-193.

Wolff (Ém.) et Wolff (Ét.). — 1952. — Sur la différenciation *in vitro* du tubercule génital de canard. *C. R. Soc. Biol.*, **146**, 492-493.

Wolff (Ét.). — 1936. — L'évolution après l'éclosion des Poulets mâles transformés en intersexués par l'hormone femelle injectée aux jeunes embryons. *Arch. Anat. Strasbourg*, **23**, 1-28. — 1947. — Recherches sur l'intersexualité expérimentale produite par la méthode des greffes de gonades à l'embryon de Poulet. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **36**, 69-90. — 1949. — L'évolution des canaux de Müller de l'embryon d'Oiseau après castration précoce. *C. R. Soc. Biol.*, **143**, 1239-1241. — 1950. — Le rôle des hormones embryonnaires dans la différenciation sexuelle des Oiseaux. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **39**, 426-450.

Wolff (Ét.) et Ginglinger (A.). — 1935. — Sur la production expérimentale d'intersexués par l'injection de folliculine à l'embryon de Poulet. *C. R. Acad. Sci.*, **200**, 2118-2120.

Wolff (Ét.) et Haffen (K.). — 1952. — Sur l'intersexualité expérimentale des gonades embryonnaires de canard cultivées *in vitro*. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **41**, 184-207.

Wolff (Ét.), Strudel (G.) et Wolff (Ém.). — 1948. — L'action des hormones androgènes sur la différenciation sexuelle des embryons de Poulet. *Arch. Anat.*, **31**, 237-310.

Wolff (Ét.) et Wolff (Ém.). — 1952. — Action de l'hormone sur la différenciation sexuelle de la syrinx de Canard cultivée *in vitro*. *C. R. Soc. Biol.*, **146**, 111-113.

Wolff (Ét.), Wolff (Ém.) et Haffen (K.). — 1951. — Sur la différenciation *in vitro* de la syrinx chez l'embryon de Canard. *C. R. Acad. Sci.*, **233**, 500-502.

Woods (F. A.). — 1902. — Origin and migration of the germ cells in *Acanthias*. *Am. J. Anat.*, **1**, 307.

LISTE ALPHABÉTIQUE DES ABRÉVIATIONS DES FIGURES

Ao : Aorte dorsale.
Av : Artère vitelline.
Bp : Basiptérygium.
Ch : Chorde.
cn : canalicule néphrostomiale du pronéphros.
CS : canalicule surnuméraire.
E : Épiderme.
Gl : Glomus.
In : Interrénal.
M : Canal de Müller.
Mc : Myocèle.
Md : Mésentère dorsal.
Mp : Myxoptérygium.
n_1, n_2, n_3 : 1er, 2e, 3e néphrostome du
N : Néphrostome du pronéphros.
Ost : Ostium(= premier néphrostome du pronéphros).
Pm : Plaque myotomiale.
Sc : Splanchnocèle.
So : Somatopleure.
Sp : Splanchnopleure
Tc : Tube cœlomique.
TD : Tube digestif.
up : Uretère primaire.
Vm : Vésicule moyenne du canal segmentaire.
W : Canal de Wolff.

Nota :

a) Toutes les sections d'embryons présentées dans les 1re et 2e parties sont transversales.

b) La longueur totale en millimètres et — éventuellement — le sexe de l'embryon dont une coupe est présentée figurent en tête des légendes.

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Sur la différenciation des canaux de Müller chez l'embryon de Poulet.

Vu et approuvé :

Strasbourg, le 19 mars 1963.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Pour le Doyen, l'Assesseur,

J. BRENET.

Vu et permis d'imprimer :

Strasbourg, le 21 mars 1963.

Le Recteur de l'Académie de Strasbourg,

Président du Conseil de l'Université,

J.-F. ANGELLOZ.

Dépôt légal : 1964, 2e trimestre, n° d'ordre 1.
Imprimerie Barnéoud S. A. Laval. — n° 4913. — 10-1964.